ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
ET DE MICROBIOLOGIE

TOME V *N° 3* *SEPTEMBRE 1932*

MÉMOIRES ORIGINAUX

RECHERCHES SUR LE TYPE BIELSCHOWSKY DE L'IDIOTIE AMAUROTIQUE AVEC RÉFLEXIONS SUR LE MÉCANISME BIOCHIMIQUE DE CETTE MALADIE

par

G. MARINESCO

I

INTRODUCTION ET OBSERVATION CLINIQUE

Le tableau clinique des différentes formes de l'idiotie amaurotique infantile s'est enrichi de nouveaux symptômes portant surtout sur les réflexes.

En effet, dans la forme infantile, la clinique nous a montré, en dehors de l'idiotie, différents troubles réflexes sur lesquels nous avons attiré l'attention, avec M. Radovici et M. van Bogaert, dans un travail récent qui a étendu encore le nombre de ces troubles.

Dans la forme tardive, à la suite des recherches de Bielschowsky sur les phénomènes hypercynétiques, M. Sjögren a trouvé que, dans l'idiotie amaurotique juvénile, il existe des symptômes constants, à savoir les troubles moteurs de caractère extra-pyramidal.

Les recherches étendues de Sjögren sur l'idiotie amaurotique juvénile l'ont conduit, à la suite d'une analyse clinique des faits connus (l'auteur ignore mes travaux), aux conclusions suivantes :

1° Les altérations du fond de l'œil, dans les cas typiques, sont les suivantes : dans les premiers stades, il y a une papille jaune gris avec des vaisseaux minces ; dans les phases tardives apparaissent des lésions dégénératives de la rétine avec des granulations fines de pigment plus ou moins nombreuses siégeant à la périphérie, ensuite de petits foyers jaunes et ronds qui ressemblent à ce que l'on voit dans l'atrophie partielle de la choroïde ou dans la rétinite pigmentaire. Dans le stade terminal, la papille est jaune pâle avec des vaisseaux filiformes; à la périphérie, il y a une quantité plus ou moins grande de pigment.

2° Certains symptômes neurologiques sont très nets et constants. C'est ainsi que les symptômes extra-pyramidaux sont sous forme d'une cyphose progressive, qui marche à petits pas, souvent trépidante, et l'hypertonie progressive surtout du type rigide. Les symptômes pyramidaux sont peu apparents et très tardifs.

Les autres symptômes, tels que la lenteur et la pauvreté des mouvements, hypermétrie, la forme spéciale de dysarthrie progressive avec articulation extrêmement rapide, les phénomènes tardifs analogues à ceux d'astasie-abasie, de même que la cyphose avec tendance à la contracture en flexion exagérée, les troubles progressifs de la marche allant jusqu'à l'impossibilité de se déplacer, de rester debout ou assis, l'hypertonie surtout du type rigide, l'atrophie musculaire en général sans réaction de dégénérescence, les mouvements analogues à ceux de l'athétose, les troubles végétatifs sous forme d'acrocyanose, apparaissent au cours des différentes phases de la maladie.

Sjórgren conclut que la maladie, quand elle est typique, offre une symptomatologie si caractéristique que, dans les cas évolués, il est possible d'émettre un diagnostic sûr même lorsqu'une famille ne comprend qu'un seul cas.

Au point de vue de l'histologie pathologique, les lésions des diverses formes d'idiotie amaurotique sont tellement caractéristiques qu'on peut poser un diagnostic en cas de doute par une simple biopsie, et l'examen anatomo-pathologique montre que

toutes les cellules du névraxe et des ganglions sympathiques et microsympathiques participent à la lésion.

Mais c'est surtout la microchimie et la chimie biologique qui ont imprimé un nouvel essor aux troubles du métabolisme qui caractérisent les diverses formes de cette maladie. Enfin, la parenté intime de l'idiotie amaurotique et de la maladie de Niemann Pick, mise en évidence pour la première fois par Bielschowsky, ont ouvert de nouveaux horizons à la pathogénie des maladies dues aux troubles des échanges nutritifs.

Puis, la parenté plus éloignée avec la maladie de Gaucher et celle de Schüller-Christian tend à démontrer que le cadre des maladies dues aux perturbations des échanges nutritifs est très vaste et, dans leur mécanisme de production, il intervient, comme je l'ai soutenu à plusieurs reprises, un trouble de l'équilibre des ferments de synthèse et de destruction. Peut-être qu'on pourrait ajouter encore la lipoïdose rénale qui pourrait avoir certaines relations avec des maladies des échanges nutritifs.

FIG. 1. — *Malade atteinte d'idiotie amaurotique.*

Tous les auteurs sont d'accord pour proclamer l'unicité des différentes formes de l'idiotie amaurotique qui ne constitueraient qu'une seule maladie dont l'aspect varie en première ligne avec l'âge, la race, etc. Il n'en est pas de même pour ce qui a trait à la pathogénie de cette intéressante maladie et sur la nature du processus pathologique; surtout depuis que M. Max Bielschowsky, auquel ce problème doit de grandes découvertes, a rapproché la maladie de Niemann-Pick de l'idiotie amaurotique, on se trouve face à face avec des opinions tellement différentes, représentées d'une part par Schaffer et ses élèves, et d'autre part par l'école allemande : Bielschowsky, Kufs, Ostertag.

L'observation anatomo-clinique que nous publions nous permettra de reprendre avec de nouvelles constatations notre manière de voir, d'où il résulte que le problème est en quelque sorte plus complexe qu'on ne le considère.

Malade âgée de neuf ans (fig. 1), qui est amenée dans le

service pour cécité, arriération mentale et instabilité motrice.

Les parents vivants sont bien portants. Pas de syphilis; la mère n'a eu ni éruption suspecte, ni fausses couches, ni naissance prématurée. Elle a mis au monde, en dehors de notre malade et avant celle-ci, 3 enfants, dont 2 ne présentent aucun trouble psychique et le troisième est mort de croup à l'âge de cinq ans.

Pendant la gravidité, elle n'a pas été malade, elle n'a pas présenté de chocs moraux ou psychiques, et l'accouchement a été normal. D'autre part, on ne trouve pas d'affection similaire chez les collatéraux. Notre malade est venue au monde dans des conditions tout à fait normales.

En dehors d'une légère grippe, d'un impétigo, jusqu'à l'âge de sept ans, elle n'a présenté rien de spécial et le père affirme qu'au point de vue psychique, notre malade était au-dessous de la moyenne, de sorte que, jusqu'à cet âge, elle s'est développée normalement : a appris à l'école, avait une excellente mémoire. Elle était même trop vive.

A l'école, son maître a constaté qu'elle ne pouvait exécuter les thèmes graphiques, était devenue irascible, instable, apprenait mal et ne voyait pas clair. Au bout de quelques mois, elle a été retirée de l'école, à cause de la diminution progressive de la vue.

La mère avait aussi constaté chez elle le changement de caractère, la difficulté d'articuler les mots, l'incohérence des idées, la diminution de l'attention et de la mémoire, et surtout une agitation presque continuelle qui ne lui permettait pas de rester sur place. Aussi, une diminution de l'odorat.

A l'examen de la malade, nous sommes surpris par l'agitation motrice. Elle ne peut rester que quelques secondes dans une attitude donnée. Elle articule quelques phrases, souvent les mêmes. D'habitude, elle n'exécute pas les ordres donnés, mais lorsqu'il s'agit d'un ordre simple dans lequel intervient un coloris affectif, elle l'exécute, mais cela n'arrive que rarement.

Son vocabulaire est très réduit; elle a gardé le nom de certains objets usuels, qu'elle prononce d'habitude assez correctement. Les phrases conservées sont *stéréotypiques*.

Elle emploie d'habitude la troisième personne lorsqu'il s'agit de ses désirs. C'est ainsi qu'elle dit : « Vilica veut dormir. — Vilica mange. »

Parfois, elle répond aux questions qu'on lui pose : « Comment t'appelles-tu ? » Elle répond son nom et celui de son père. Elle connaît les noms de sa mère et de son père, de son frère et de sa sœur, mais elle ne répond pas d'une façon correcte. Elle sait

qu'elle ne se trouve pas à la maison et qu'elle est accompagnée de sa mère.

Presque toutes ses connaissances apprises sont supprimées.

Elle ne se préoccupe pas de ce qui se passe autour d'elle, mais elle continue son langage rudimentaire et ses mouvements. Lorsqu'on produit un bruit plus fort, elle s'arrête pour un instant.

Elle ne peut compter que jusqu'à trois, ni dire le nom des jours de la semaine.

A l'égard du milieu ambiant, elle se conduit plutôt comme une aveugle. Lorsqu'on l'appelle, elle tâche de s'orienter dans la direction de la voix, mais pour s'y diriger, elle se heurte à tous les objets qu'elle rencontre.

Elle reconnaît sa mère qu'elle appelle souvent quand celle-ci est absente.

Elle prononce des paroles sans aucun rapport entre elles et parfois des fragments de poésie dont on ne peut pas bien saisir le sens. Elle répète souvent la même phrase. On constate que même l'articulation d'un mot n'est pas correcte, car il y manque des syllabes.

Rien d'anormal du côté de la figure, mais les paupières sont plutôt baissées et la malade regarde en bas. Parfois, elle regarde en l'air et, alors, il y a un strabisme interne inconstant de l'œil droit. La bouche entr'ouverte laisse couler de la salive.

La perception visuelle paraît supprimée quand la malade regarde en haut ou tout droit, car elle ne réagit pas quand on approche le bout du doigt de ses yeux.

Le regard en bas est accompagné du retrait de la tête quand on rapproche le doigt.

La mobilité de la face est normale, de même que la déglutition. On ne peut se faire une idée exacte de l'odorat. Le goût paraît conservé.

En dehors de l'instabilité générale du corps, on constate certains mouvements désordonnés ressemblant à ceux de la chorée. Il n'y a pas de troubles du tonus manifestes. Les réflexes ostéo-tendineux des membres supérieurs sont normaux. Le réflexe plantaire est normal, le réflexe abdominal supérieur existe, le réflexe abdominal inférieur a disparu. Pas de troubles sphinctériens et elle demande le nécessaire pour ses besoins. Il n'y a que dans le cas de retard qu'elle perd l'urine.

La sensibilité ne semble pas altérée, car elle réagit à la douleur, retirant en criant le membre piqué ou brûlé.

Vu son état mental, on ne peut pas faire l'examen du langage.

En pratiquant une biopsie au niveau de la région frontale, on a trouvé, à la surface de l'écorce cérébrale, un exsudat qui a été enlevé et auquel adhérait l'écorce cérébrale. Sur ce petit morceau, mesurant 3 millimètres, nous avons pu étudier les lésions fines des cellules nerveuses en vue de la recherche des mitochondries et des neurosomes et pour la méthode de Dietrich. Les mitochondries offraient des modifications qui, à notre point de vue, ont un intérêt particulier.

L'exsudat est constitué par des amas de substances amorphes séparées par des travées de collagène et de capillaires et une masse de globules rouges extravasés, et puis une quantité de lymphocytes et même des polynucléaires.

Nous croyons qu'il s'agit là d'un processus inflammatoire au niveau de l'arachnoïde.

A propos de la lésion des méninges molles, je dois faire remarquer que si plusieurs auteurs affirment qu'elles sont intactes, d'autres (Hassin, etc.) figurent une hyperplasie de la pie-mère qui, étant épaissie, a parfois ses mailles contenant des lymphocytes, des macrophages remplis de pigment, des corps granuleux chargés de lipoïdes, des fibroblastes et même des corpuscules amyloïdes homogènes.

Les altérations de la pie-mère, dans le cas de Hassin, intéressaient non seulement l'écorce du cerveau et la moelle épinière, mais elles étaient plus marquées autour du cervelet.

Dans notre cas, l'altération de la pie-mère et de l'arachnoïde atteint des proportions considérables.

La malade a succombé au bout de quelques jours avec une fièvre élevée et, dans le liquide céphalo-rachidien, on a constaté une quantité considérable de polynucléaires.

II

EXAMEN ANATOMO-PATHOLOGIQUE DU SYSTÈME NERVEUX

La méthode de Nissl nous permet de constater, dans l'écorce cérébrale et le reste du névraxe, les lésions qui ressemblent à celles décrites par Spielmayer, Bielschowsky, nous-même et Hassin. Certaines particularités méritent d'être mises en évidence.

Tout d'abord, le degré de la lésion, fait constaté aussi par les

autres méthodes, est en rapport avec l'évolution ontogénique des cellules nerveuses, c'est-à-dire que les grosses cellules de l'écorce offrent une quantité plus marquée de substance chromatophile cantonnée autour du noyau. D'autre part, la lésion commence en général à la base des grosses cellules pyramidales pour s'étendre dans le reste de la cellule en laissant souvent une zone périnucléaire intacte, et la dendrite apicale et ses prolongements conservent leur intégrité complète.

Par contre, dans les cellules moyennes et petites, très tuméfiées, on ne voit plus de granulations chromatiques.

Ensuite, dans la zone atteinte par le processus pathologique, qui se comporte comme toute autre région cellulaire à lipochrome, on peut voir encore quelques fines granulations qui se teintent en bleu violet par la thionine.

J'attire de nouveau l'attention sur le fait que le noyau entouré d'une zone chromatophile ou de corps de Nissl est vésiculeux, son nucléole et la chromatine gardent leur structure, tandis que, dans les pyramides moyennes gonflées, le noyau est rétracté, déformé et à contenu coloré par la thionine.

C'est là pour moi un phénomène qui a une grande signification au point de vue du mécanisme de l'hérédité. En effet, j'ai soutenu antérieurement que l'opinion classique, suivant laquelle le substratum héréditaire est concentré dans la chromatine et le cytoplasma, ne joue aucun rôle, me semble erronée et que, selon l'avis de quelques auteurs, parmi lesquels je me compte aussi, le protoplasma, comme le noyau, joue à son tour un rôle important dans l'hérédité. Or, dans l'idiotie amaurotique infantile juvénile ou tardive, le noyau garde en général sa structure, ou bien il est atteint d'une manière secondaire, comme il arrive dans la section d'un nerf périphérique, toutes les fois que l'équilibre osmotique de la cellule est dérangé.

Un autre phénomène qui doit attirer l'attention, c'est l'absence du pigment noir dans les cellules nerveuses de la substance noire de Soemmering; mais, par contre (fig. 2), les parties lésées de ces cellules sont remplies de lipoïdes. C'est là une lésion qui mérite d'être remarquée parce qu'elle relève, à mon avis, d'une perturbation de l'activité des ferments, car l'opinion que j'ai toujours défendue, dans les maladies héréditaires et familiales, opinion d'ailleurs soutenue également par mon éminent collègue Bielschowsky, est que la perturbation de l'activité des ferments doit jouer un rôle dans l'idiotie amaurotique.

N'oublions pas de mentionner que, dans l'écorce cérébrale,

nous avons rencontré parfois des cellules binucléées (fig. 3).

Comme on le voit, dans notre cas, l'altération des cellules nerveuses intéresse presque toutes les cellules du névraxe et du système végétatif, mais il y a une hiérarchie de ces lésions, c'est-à-dire qu'elles sont beaucoup plus avancées dans l'écorce cérébrale que dans les autres régions du névraxe et que, même dans l'écorce, les couches profondes, comme c'est le cas pour les cinquième et sixième couches, paraissent moins touchées que les deuxième, troisième et quatrième couches. Ce fait est surtout très facile à constater pour les types 1, 2, 3, 4, de Brodmann, où nous voyons que les cellules de la cinquième couche, les grosses pyramides et les cellules de Betz, sont partiellement atteintes; la région qui entoure le noyau et la dendrite apicale est intacte. Dans la scissure calcarine, les lésions sont plus profondes, la stratification normale est troublée et la division en couches peu accusée.

Ensuite, nous n'avons jamais vu dans ces cellules l'altération profonde du noyau qui, dans les cellules de la troisième couche surtout, peut être pycnotique, homogène et refoulé vers la région de la dendrite apicale. Je dois noter que, parfois, on voit des cellules intactes ou relativement intactes même dans la troisième couche. Ensuite, comme nous l'avons remarqué autrefois, les cellules radiculaires de la moelle épinière et du bulbe, les cellules des ganglions spinaux, conservent toujours une partie intacte et c'est surtout celle qui entoure le noyau.

On dirait, d'après ces constatations, qu'en considérant l'ordre chronologique de leur évolution, les cellules sont touchées en rapport inverse avec leur développement.

Les cellules radiculaires de la moelle épinière et des nerfs craniens, qui ont acquis de bonne heure leur fonction, sont moins altérées que les cellules de Betz, et ces dernières moins altérées que les cellules des deuxième et troisième couches.

D'autre part, nous avons observé, dans les pièces traitées par la méthode de Heidenhein, quelques cellules présentant la dégénérescence dite lécithinoïde.

Un autre point à noter, c'est que, dans les cellules à noyau pycnotique et dégénéré et dans leur protoplasme, la réaction de Macalum pour le fer est, pour la plupart du temps, négative.

Dans le lobule paracentral, les fibres tangentielles très riches forment une couche épaisse et dense et sont parfois réunies en faisceaux obliques. Les fibres supra et extra-radiées sont normales.

Un bon nombre de cellules des troisième et cinquième couches

contiennent des granules grossiers noirs répandus parmi les granulations plus fines grisâtres.

Dans la région frontale, on peut distinguer par la même méthode trois espèces de cellules :

1° Des cellules teintées en brun rétractées, leur noyau poussé vers la dendrite apicale. Dans la masse uniforme brunâtre, on peut distinguer à fort grossissement des granules brunâtres réfringents peu distincts, à contour mal délimité.

2° Dans la deuxième variété, on voit dans le cytoplasme des zones claires de dimensions et formes différentes, dans lesquelles il y a des granules noirs de volume à peu près égal, Parfois, on ne voit qu'un petit conglomérat de granules.

On gagne l'impression que ces zones claires remplies de granules résultent d'un processus d'hydrolyse et que la masse granulaire se trouve dans une vacuole digestive.

3° Il y a des cellules avec des granulations hématoxylinophiles disséminées dans tout le cytoplasma.

Dans cette dernière espèce cellulaire, le noyau est vésiculeux, clair et contient de la chromatine disséminée.

Toujours au Wolters, on voit des cellules volumineuses remplies de granulations teintées en noir grisâtre par la laque hématoxylinique.

La conclusion qui paraît se dégager de ces constatations est que, dans certaines régions, les fibres nerveuses radiées, super et intra-radiées et tangentielles, n'ont pas subi de modifications.

Il n'en est pas de même dans les régions où l'on a constaté de l'arachnoïdite que nous avons mentionnée. A ce niveau, les fibres tangentielles, comme les fibres super et intra-radiées, font défaut. Il n'y a que la masse blanche sous-jacente à la substance grise qui paraît mieux conservée.

Du reste, le fait qu'il n'y a pas de signes de dégénérescence descendante soit pyramidale, soit de faisceau de Türck, etc., tend à démontrer que leurs cellules d'origine n'ont pas beaucoup souffert, malgré que leurs lésions apparentes soient assez profondes.

Dans le cervelet, la couche zonale n'offre pas de fibres par la méthode de Wolters; dans la couche granulaire, il y a des fibres épaisses et même formant des plexus. Dans la substance rayonnante, peut-être, il y a une raréfaction des fibres.

Dans les circonvolutions atrophiques, diminution des granules.

On ne peut pas affirmer que les cellules nerveuses soient atrophiées.

La méthode de Herxheimer, pour l'étude des lipoïdes sudanophiles, nous a permis de constater la surcharge de lipochrome dans presque toutes les cellules de l'écorce, surcharge qui est moins accusée dans les noyaux radiculaires du bulbe et de la moelle et dans les ganglions spinaux. Comme nous avons attiré l'attention antérieurement, il y a des modifications des microganglions siégeant entre les deux couches musculaires de l'estomac et de l'intestin.

Le protoplasma de leurs cellules est rempli de lipoïdes, les cellules sont légèrement tuméfiées et le noyau tantôt central ou plus ou moins vésiculeux, d'autres fois pycnotique et rejeté à la périphérie.

Une éventualité fréquente dans l'idiotie amaurotique juvénile est représentée par l'intensification du processus pathologique dans le cervelet. Même macroscopiquement, on constate un fort degré d'atrophie du cervelet.

C'est Bielschowsky qui, le premier, a relevé l'atrophie histologique du cervelet dans l'idiotie amaurotique, atrophie qui se distingue d'autres formes d'atrophie cérébelleuse, surtout de celle de l'ataxie hérédo-cérébelleuse. Schob, à son tour, a pu confirmer la constance des phénomènes décrits par Bielschowsky.

D'après Schob, dans les cas favorables d'idiotie amaurotique, la couche granulaire est fortement raréfiée, voire même disparue comme dans l'ataxie cérébelleuse; toujours, dans les deux formes d'atrophie cérébelleuse, la couche moléculaire est amincie. Mais tandis que dans l'atrophie cérébelleuse les cellules de Purkinje sont absentes, dans l'idiotie amaurotique, tout au moins au début, elles sont conservées en nombre plus ou moins grand, mais elles sont tuméfiées comme leurs prolongements.

Si le processus pathologique de l'idiotie amaurotique est avancé, les cellules de Purkinje disparaissent à leur tour; lorsque les prolongements et le corps de la cellule dégénèrent, ils sont remplacés par des arborescences et on voit plusieurs couches de cellules, siégeant à la limite entre les couches moléculaire et granulaire, qui correspondent à la multiplication des noyaux des fibres névrogliques de Bergmann.

Plus caractéristique encore est l'image des fibrilles. Dans l'idiotie amaurotique, les fibrilles siègent à la périphérie ou autour du noyau des cellules de Purkinje; on voit, en outre, des boules de l'axone. Les fibres grimpantes et mousseuses sont presque totalement absentes, et les corbeilles autour des cellules de Purkinje, de même que les fibres parallèles de la couche

ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE ET DE MICROBIOLOGIE
Tome V, N° 3, Septembre 1932

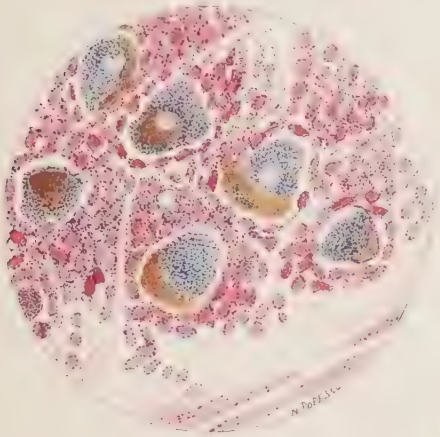


Fig. 6. — Coupe d'un ganglion spinal cervical (méthode de Graeffe). Au niveau de la région occupée par les lipoïdes, la quantité d'oxydases est réduite ou nulle.

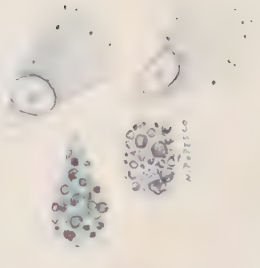


Fig. 7. — En haut, deux cellules de l'écorce cérébrale (troisième couche), traitées par la méthode de Graeffe. (La pièce n'a pas été traitée par l'iode.) On y voit quelques granulations disséminées sur un fond plus pâle de granulations de lipoïdes.

En bas, deux cellules de la deuxième couche offrant une surcharge de lipoïdes et l'absence presque absolue de granulations d'oxydases.

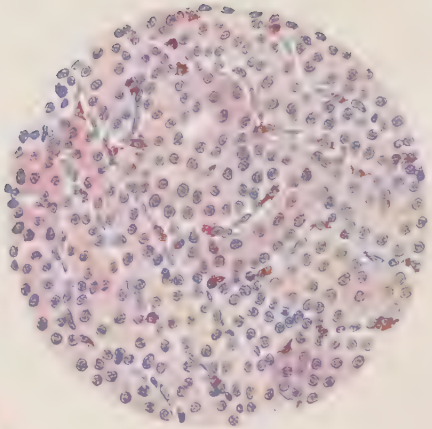


Fig. 8. — Coupe transversale du foie traitée par la méthode de Herxheimer (Scharlach-hématoxyline). Les cellules de Kupffer sont bourrées de lipoïdes, qui n'existent que sous forme de poussière fine dans les cellules hépatiques.

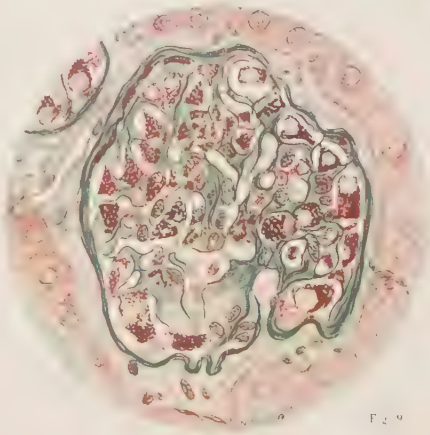


Fig. 9. — Coupe du rein traitée par la méthode de Ciaccio montrant dans un glomérule un nombre très grand de cellules remplies de granulations rouges.

MASSON ET Cie, EDITEURS

moléculaire, sont également disparues. Dans l'hérédo-ataxie, l'image est tout autre. Les fibres grimpantes, mousseuses et les corbeilles y existent. C'est là la raison pour laquelle Bielschowsky a appelé l'atrophie de l'idiotie amaurotique du type cérébello-pétal, tandis que l'hérédo-ataxie offre une atrophie cérébelleuse du type cérébello-fugal.

D'après Bielschowsky, l'atrophie de l'écorce cérébelleuse débute dans la zone granulaire; Schob, au contraire, dans un cas, n'a pas trouvé de lésions de la couche granulaire.

La méthode de Cajal pour la névroglie nous montre la disparition complète des cellules de névroglie protoplasmique et leur transformation fibreuse. Cette altération existe dans toutes les couches et intéresse aussi bien la névroglie qui se trouve en contact avec les neurones, les cellules névrogliques périvasculaires et interstitielles (fig. 4).

Les altérations profondes de la névroglie, qui ont été constatées par la plupart des auteurs et sur lesquelles a insisté surtout Bielschowsky, et que, d'autre part, M. Schaffer considère, à l'instar des cellules nerveuses, comme une lésion primitive, est un fait qui mérite d'être souligné.

En effet, toutes les méthodes que nous avons utilisées, soit spécifiques (méthodes de Cajal et de Penfield) ou bien celles de Mallory pour les Mitochrondries, nous montrent la disparition de la névroglie protoplasmique, la disparition des gliosomes et la transformation en névroglie fibreuse, de sorte que nous ne pensons pas qu'il faut l'envisager comme une lésion secondaire, consécutive au processus d'altération des cellules nerveuses. Ce qui nous raffermit dans cette opinion, c'est que, dans aucune autre forme d'idiotie : mongolienne, myxœdémateuse, microgyrique et même dans une forme que nous avons décrite il y a quelques années, nous n'avons pas constaté une pareille lésion et, par contre, on trouve des cellules névrogliques protoplasmiques réduites de volume ou ayant subi une transformation fibreuse partielle.

Nous ne voulons pas nier d'une façon formelle que l'altération des cellules nerveuses ne favorise pas ce processus de transformation fibreuse de la cellule névroglique, mais il apparaît beaucoup plus probable que les cellules névrogliques participent d'une façon primitive au processus, qui caractérise l'idiotie amaurotique, c'est-à-dire qu'il intervient dans ce processus un trouble du potentiel d'oxydo-réduction dû à l'hydrolyse qui nous

expliquerait la tuméfaction et la formation des fibrilles névrogliques, comme suite de la disparition des gliosomes.

Pour Santha, dans la forme infantile, la lésion typique est représentée par des cellules névrogliques monstrueuses, par l'hyperplasie et par l'hypertrophie névroglique. Assez souvent, on voit dans des cellules névrogliques plusieurs noyaux et même des divisions amitotiques du noyau. Le noyau devient également monstreux, souvent lobulé et offre de la chromatine en quantité variable. Ces éléments monstrueux se trouvent là où il existe une destruction du parenchyme dans l'écorce cérébrale, dans la maladie de Tay-Sachs.

Schaffer ne conteste pas la possibilité d'une lésion secondaire de la macroglie, mais il croit que, dans l'idiotie amaurotique infantile, l'ectoderme, comme le tissu névroglique, est profondément altéré d'une manière dégénérative et primitive. Il parle même (1919) d'une lésion propre de la macroglie. Bielschowsky, à son tour, émet, en 1920, son hypothèse d'après laquelle l'idiotie amaurotique serait l'expression de l'insuffisance végétative des cellules nerveuses, voire aussi de toutes les cellules du système nerveux provenant de l'ectoderme.

En outre, Bielschowsky, dans sa théorie pathogénique, à côté de la séparation de la fonction nerveuse et végétative des cellules nerveuses, croit que le rôle principal revient à l'insuffisance de la névroglie métaplastique.

D'après Santha, l'oligodendroglie, comme la microglie, entrent en relation probablement dans la première phase du processus de désintégration. Il n'y a pas de différence de coloration des granules graisseux neutres que ces deux cellules contiennent. L'oligo comme la microglie peuvent se transformer en corps granuleux.

Santha conclut que, dans ces cas, la réaction névroglique est secondaire au processus fondamental qui a lieu dans les cellules nerveuses. La névroglie n'offre pas de granulation prélipoïdes, mais elle réagit en se transformant en des cellules monstrueuses plasmatiques ou en névroglie fibreuse.

La rétine offre des lésions fort caractéristiques (fig. 5) qui ressemblent à plus d'un trait à celles décrites par Greenfield.

Elles intéressent à la fois les cônes et les bâtonnets, les cellules nerveuses, la névroglie et, en petite mesure, les petits vaisseaux.

On constate tout d'abord qu'une bonne partie des cellules de l'épithélium pigmentaire de la choroïde ont émigré dans les couches externes de la rétine et se répandent sur une grande

étendue, étant plus ou moins isolées ou accumulées, suivant souvent le trajet des petits vaisseaux dont la gaine est entourée d'une couche dense de cellules pigmentaires.

La couche des cônes et des bâtonnets est disparue presque complètement; sa place est occupée par les cellules pigmentaires et la névroglie fibreuse; on constate des fibres de Müller épaisses ou en faisceaux.

Tandis que la couche granulaire externe est bien conservée en dehors de quelques petites formations microkystiques de la couche granulaire interne, celle-ci est disparue en grande partie ou réduite à l'état de vestige.

La région de la rétine occupée à l'état normal par la couche granulaire interne est parsemée par une série de formations microkystiques.

Les modifications de la névroglie fibreuse sont très évidentes au Mallory; il s'agit, comme nous l'avons dit, d'une hyperplasie des fibres de Müller qui sont épaisses et réunies en faisceaux teints en bleu par cette méthode.

Les lésions des cellules nerveuses, soit au niveau de la macule, soit partout ailleurs, sont très caractéristiques et ressemblent à celles de l'écorce cérébrale.

En effet, dans les pièces au Herzheimer (Scharlach-hématoxyline), toutes les cellules nerveuses unipolaires ou bipolaires contiennent dans leur cytoplasme une poussière fine jaune orange qui prend le Scharlach.

Leur corps cellulaire est gonflé ou bien rétracté. Le noyau excentrique est refoulé à la périphérie.

La membrane limitante est festonnée.

La couche des fibres nerveuses se fait remarquer par la minceur de leur calibre et la paroi des vaisseaux, surtout au niveau de la papille épaissie, et contient souvent des cellules pigmentaires.

Comme on le voit, c'est surtout la couche des cônes et des bâtonnets qui a subi l'altération la plus profonde, et aussi la couche granulaire interne, qui sont disparues.

Les cellules nerveuses subissent une désintégration lipoïde que nous attribuons toujours à une altération des mitochondries.

Les lésions décrites aboutissent à une atrophie de la rétine.

La méthode de Graeffe, légèrement modifiée par nous, montre des lésions fort caractéristiques intéressant toutes les cellules du névraxe des ganglions spinaux (fig. 6) sympathiques et micro-

sympathiques, mais elles atteignent leur maximum au niveau de l'écorce cérébrale et spécialement de la zone calcarine.

On peut dire, d'une façon générale, qu'il y a un rapport inverse entre la quantité des grains d'oxydases et la quantité des lipoïdes. C'est ainsi que, dans les cellules des ganglions spinaux et radiculaires, la quantité d'oxydases est plus grande que dans les cellules de l'écorce cérébrale et que, d'autre part, les cellules de Betz, de même que les grosses cellules de la cinquième couche (pariétale ascendante, c'est-à-dire les types 1, 2, 3, 4, 5, de Brodmann), les granulations d'oxydases, persistent là ou la substance chromatophile est conservée dans la région périnucléaire et dans les dendrites apicales.

En outre, sur les préparations d'oxydases non fixées par le Lugol (fig. 7), on voit très bien que les lipoïdes se présentent sous deux aspects différents, petites granulations colorées en violet pâle, entre lesquelles se trouvent quelques granulations d'oxydases et, d'autre part, sous forme de vésicules ou de bulles siégeant surtout dans les petites cellules.

La région occupée par les lipoïdes est, en général, à peu près exempte de granulations d'oxydases ou en possède une petite quantité disséminée dans la masse des lipoïdes.

Il y a un parallélisme complet entre les images fournies par la méthode d'Alzheimer et celles des oxydases.

C'est ainsi que la région de la cellule qui a subi la transformation lipoïdique est, en général, pauvre en granulations fuchsinophiles, malgré que, parfois, on puisse en rencontrer un certain nombre.

En tout cas, elles sont plus nombreuses dans la zone périphérique, et surtout dans la dentrite apicale, qui est très riche en granulations fuchsinophiles. Malgré qu'il y ait une certaine ressemblance entre les granulations fuchsinophiles et les mitochondries, nous avons employé la méthode de Bensfild Jones préconisée par Cowdry, et nous avons obtenu des images qui nous permettent de comprendre la transformation des mitochondries en lipoïdes, c'est-à-dire que la portion lipoïde des mitochondries se détache, par un mécanisme physico-chimique, de la portion albuminoïde, ce qui a pour conséquence l'augmentation du nombre des molécules et nous explique le courant d'endosmose qui réalise la tuméfaction de la cellule, de sorte que ce gonflement n'est pas dû, comme le croyait M. Schaffer, à l'altération primitive du hyaloplasma.

J'ai soutenu, dans mes publications antérieures, que les bulles

ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE ET DE MICROBIOLOGIE
Tome V, Nº 3, Septembre 1932

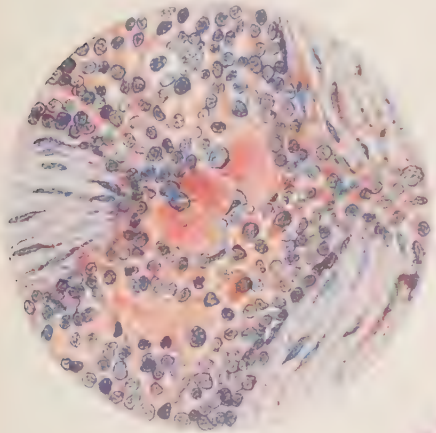
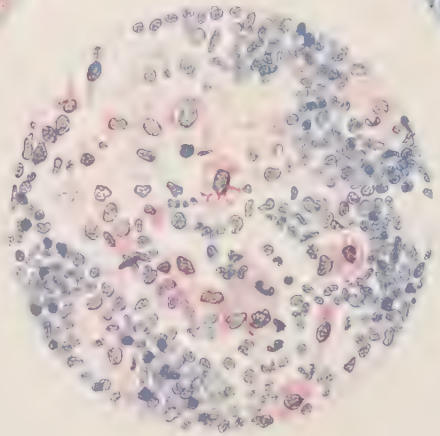


Fig. 10. — Coupe d'un petit fragment de rate, montrant de grosses cellules surchargées de lipoïdes de la région réticulée.

Fig. 11. — Coupe d'un ganglion lymphatique montrant la topographie du carmin.



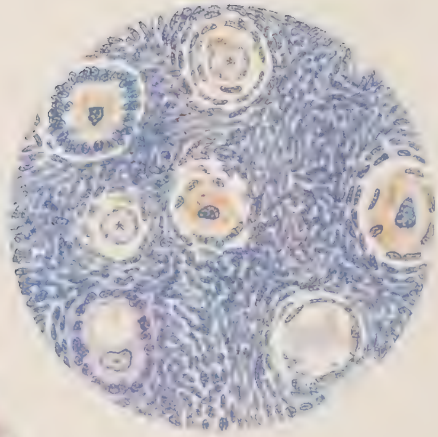


Fig. 12. — Coupe de l'ovaire traitée par la méthode de Herxheimer (Scharlach-hématoxyline), montrant des ovules non-développés ou atrophiés. Les corpuscules de Balbiani, mal délimités, sont constitués par de fines granulations oranges.

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

situées sur le trajet des ramifications des dendrites des cellules de Purkinje peuvent offrir une végétation exubérante de collatérales qui se ramifient à leur tour, et j'ai considéré qu'il s'agit là d'une néoformation de branches dendritiques.

Mes nouvelles recherches sont de nature à confirmer cette opinion, malgré qu'un auteur compétent, M. Schob, n'est pas disposé de l'admettre.

En effet, sur les bords de ces bulles, de même que dans leurs ramifications, on voit encore beaucoup de granulations d'oxydases et, d'autre part, la méthode d'Alzheimer fait voir de fines granulations fuchsinophiles.

Il est probable que la capacité de régénérescence des dendrites des cellules de Purkinje est plus grande. D'ailleurs, la figure 161 du travail de M. Schob est très caractéristique à ce point de vue.

C'est surtout dans les ganglions spinaux que nous pouvons nous rendre compte des modifications que subissent les mitochondries avant d'être transformées en lipochrome.

Tout d'abord, on peut constater une relation étroite entre les espèces cellulaires, le lipochrome et la transformation progressive des mitochondries. En effet, il y a des cellules qui, à l'état normal, contiennent des mitochondries et des chondriocontes très fins en quantité énorme. Il s'agit là de cellules claires où même la substance chromatophile se présente non pas sous forme de gros corpuscules de Nissl, mais de petits corpuscules.

Nous devons ajouter que la transformation directe des mitochondries n'est pas toujours à constater, même dans ces cellules. Mais on voit bien comment les mitochondries changent de forme, se gonflent; leur contour devient irrégulier et elles ne se présentent plus comme des granulations ou des bâtonnets, mais comme des formations revêtant diverses formes. Même dans ces cellules grosses et claires, la région la mieux conservée offre une diminution du nombre des mitochondries, — qui font à peu près défaut dans la région dégénérée.

Parfois, on peut observer que les mitochondries forment une espèce de réseau dont les travées sont irrégulières et s'entrecroisent différemment.

Dans ces cas, il apparaît la difficulté de décider si, dans les préparations faites par la méthode de Da Fano, il s'agit de mitochondries ou bien de l'appareil de Golgi.

Il est vrai que, rarement, nous avons pu rencontrer, même dans les cellules de ganglions spinaux, un véritable appareil de Golgi.

Celui-ci fait défaut dans toutes les régions du névraxe; il n'y

a que dans quelques cellules des ganglions spinaux qu'on en rencontre des vestiges. Aussi, nous nous sommes demandé si cette absence ne serait pas due à un défaut de technique, d'autant plus que nous avons prélevé les pièces six heures après la mort, le malade ayant succombé pendant la nuit. Du reste, on sait que l'appareil de Golgi est très fragile, qu'il subit des modifications très variables et que, même à l'état normal, l'aspect des cellules varie avec les ganglions, suivant la variété considérée, ainsi qu'il est parfois difficile d'affirmer si nous avons affaire à un état différent, dû à la fonction, ou bien à une altération pathologique. M. Sosa (de Montevideo) a insisté sur ces variétés fonctionnelles.

Mais il y a une autre question qui se pose à propos des altérations des mitochondries et des canalicules de Golgi. En effet, nous ne sommes pas bien renseignés sur la valeur respective fonctionnelle des mitochondries et de l'appareil de Golgi, mais il paraît fort probable que les mitochondries, vu les phénomènes d'adsorption qui ont lieu à leur surface, remplissent le rôle de ferments, car, fort probablement, les différents ions et surtout l'ion Fer et l'ion Manganèse sont adsorbés par les granulations colloïdes, les bioblastes d'Altmann, les plastosomes de Benda. Et, d'autre part, les mitochondries, comme j'ai insisté après Meves, exerceraient un rôle important dans l'hérédité protoplasmique. De même, les recherches de Guillermond sur les cellules végétales, et celles de Paraf sur les cellules animales. Dans ces conditions, nous nous demandons si l'appareil de Golgi ne pourrait pas intervenir dans le démasquage des lipoïdes, étant donné les troubles profonds du métabolisme des lipoïdes dans la maladie de Tay-Sachs.

Examen histologique général des organes

(*en collaboration avec* M. S. Bratiano)

Le foie. — Etudié avec les techniques de Heidenhain, de Ciaccio, ou coloré au Scharlach-hématoxyline, le foie présente certaines particularités. Dans la plupart des cellules des lobules, le chondriome est complètement inexistant, tandis que, dans d'autres, il est représenté par un certain nombre d'éléments difficilement colorables, ayant des formes et des dimensions très variables. Parfois granuleux et irrégulier, parfois en bâtonnets

diphtéroïdes, quelquefois colorés en noir, mais le plus souvent achromique, il n'est jamais normal. Les canalicules biliaires intercellulaires sont très évidents, des fois irréguliers et ampouliformes.

Un certain nombre de cellules présentent des éléments du chondriome disposés à la périphérie de la cellule.

Avec la coloration Scharlach-hématoxyline, on met en évidence, dans les cellules hépatiques, de fines granulations jaunâtres, le plus souvent en diplocoques; les cellules de Kupffer sont, par contre, bourrées de gros grains ronds, bien individualisés, colorés en rouge intense par le Scharlach simple (fig. 8), mais non colorables par la méthode de Ciaccio.

Le rein. — Etudié par les mêmes méthodes, le rein présente les mêmes altérations mitochondriales dans les tubes contournés; le fait le plus frappant est mis en évidence par la coloration de Ciaccio : c'est la présence dans le glomérule d'un nombre excessivement grand de cellules de nature mésodermique juxtaposées aux capillaires glomérulaires et remplis de gros grains colorés en rouge intense par la méthode de Ciaccio (fig. 9). Ces cellules sont allongées, fusiformes, filiformes, triangulaires ou rameuses. Le nombre de ces éléments atteint parfois presque la centaine. Ce sont des éléments du tissu mésodermique qui coiffent les ampoules des tubes collecteurs du métanéphro au cours du développement. Ces éléments sont chargés, dans notre cas, de lipoïdes. Ils représentent des restes du mésoderme qui n'ont pas pris part à la formation des vésicules rénales d'Emery.

Le tube contourné montre deux aspects différents; la portion qui s'abouche au glomérule présente de nombreuses granulations rondes, colorées en rouge par la méthode de Ciaccio, de taille irrégulière et irrégulièrement disposées dans tout le protoplasma des cellules de cette portion du tube contourné. Le reste du tube contourné présente de très fines granulations parsemées dans toute la hauteur de leur cytoplasma.

Les autres segments du tube urinaire ne présentent rien de particulier, sauf une richesse plus grande, en grains Scharlachophiles, que normalement.

La rate. — La rate présente une cyto-architecture normale; les cellules à pigment sont peu fréquentes; un grand nombre de cellules réticulo-endothéliales des sinus et des cellules réticulaires, ainsi que certains splénocytes, montrent de gros grains colorables au Ciaccio (fig. 10); chaque champ microscopique enferme environ 5 à 10 éléments de forme et taille différentes

remplies de telles granulations. Ces granulations ne prennent pas la laque hématoxyline de Heidenhain ou parfois très faiblement, donnant une teinte gris noirâtre.

Le ganglion lymphatique, ainsi que les autres organes, ne présentent aucune altération particulière de leur parenchyme spécifique (fig. 11).

L'ovaire présente de nombreux follicules atrétiques, riches en cellules macrophagiques et folliculaires, remplies de grains Scharlachophiles. La glande interstitielle en plein développement est peu chargée de grains de graisse. Les ovules ne paraissent pas avoir des altérations nécrotiques, sauf dans les régions à follicules atrétiques ou en voie d'atrésie (fig. 12).

Les cellules nerveuses des microganglions, situés entre les couches musculaires de l'estomac et de l'intestin, sont surchargées de lipoïdes (fig. 13).

En somme, ce qui est particulier dans les organes que nous avons décrits, c'est la surcharge lipo-lipoïdique de certaines cellules du système réticulo-endothélial; ces lipo-lipoïdes ne prennent pas la laque hématoxylinique, mais prennent le Ciaccio dans certains organes ou seulement le Scharlach, sans chromisation, dans d'autres.

Nous donnons à présent quelques recherches faites en collaboration avec M. Serban Bratiano, pour étudier la capacité d'emmagasinement du système réticulo-endothélial et les autres cellules parenchymateuses.

1° On a injecté, dans ce but, 60 centimètres cubes de carmin lithiné colloïdal par voie intra-veineuse. L'injection ne détermine aucun trouble nouveau chez le malade qui est en semi-coma. Après la mort, qui survient soixante heures après, l'autopsie a été effectuée rapidement.

Pendant ces soixante heures qui suivirent l'injection, la malade ne présenta pas d'urines colorées en rouge, ce qui démontre une imperméabilité de la cellule rénale; car chez les animaux normaux, injectés de carmin colloïdal, le premier acte de défense de l'organisme, vis-à-vis du colorant injecté, est l'élimination par l'urine qui se colore, deux à trois minutes après l'injection, en rouge.

L'étude de tous les segments constituant le S. R. E. (rate, ganglion lymphatique, foie, moelle osseuse, histiocytes cutanés) elle nous montre la fonction de colloïdopexie conservée dans les cellules réticulo-endothéliales du ganglion lymphatique, ainsi que dans les histiocytes cutanés, qui normalement sont les derniers

ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE ET DE MICROBIOLOGIE
Tome V, N° 3, Septembre 1932

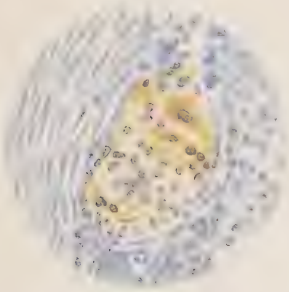


Fig. 13 A

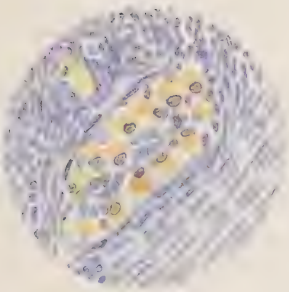


Fig. 13 B

Fig. 13. — Microganglions situés entre les couches musculaires de l'estomac (A), et de l'intestin (B). On y voit des cellules nerveuses surchargées de lipoïdes.

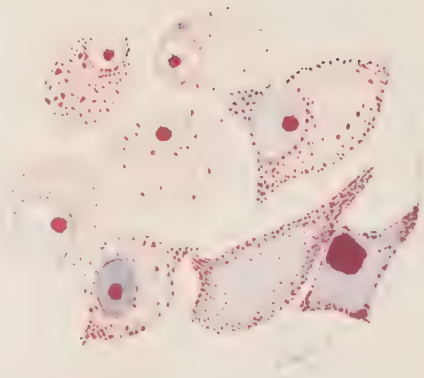


Fig. 14

Fig. 14. — Coupe de l'écorce traitée par la méthode de Bensley pour les mitochondries. La plupart des cellules sont gonflées. Les mitochondries sont granulaires, de volume inégal, clair-semées dans les cellules très gonflées, dans d'autres cellules il n'y a de mitochondries qu'à leur périphérie.

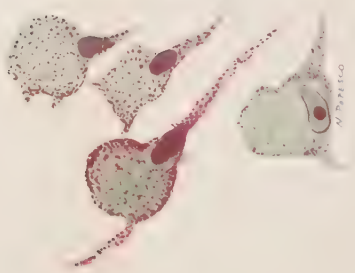


Fig. 15

Fig. 15. — Cellules de l'écorce cérébrale (troisième couche) traitées par la méthode d'Alzheimer, montrant dans les régions baloniformes quelques granulations fuchsinophiles isolées ou réunies. Elles sont plus nombreuses dans la dendrite principale. Les noyaux rétractés sont refoulés à la base des dendrites principales.

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

à emmagasiner les colorants vitaux; les cellules de Kupffer, les cellules réticulo-endothéliales de la rate et de la moelle osseuse, ne présentent point de granulations de carmin, quoique normalement leur capacité colloïdopexique soit de beaucoup supérieure à celle des histiocytes cutanés. Le système nerveux, cellule nerveuse, névroglie, microglie, péricytes, plexus choroïdes, le parenchyme rénal et hépatique, ne présentent pas de carmin floculé ou dissous dans leur protoplasma. Comme conclusion, l'épreuve vitale nous démontre que la perméabilité cellulaire pour les colloïdes, loin d'être augmentée, est diminuée d'une façon évidente dans les cellules rénales, les cellules de Kupffer et les réticulo-endothéliums de la rate. Jugeant par analogie, il nous est permis d'admettre que cette perméabilité est réduite de même pour les substances colloïdales provenant du métabolisme normal de l'organisme, comme c'est le cas pour les lipoïdes, le fer, etc.

En étudiant en même temps ces organes (rein, rate, foie, ganglion) avec des méthodes qui mettent en évidence les lipoïdes et les graisses, on a pu constater, dans les réticulo-endothéliums de la rate, dans les cellules de Kupffer, dans le rein, dans les épithéliums, ainsi que dans les péricytes des glomérules rénaux, des quantités considérables de lipoïdes qui occupent, sous forme de granulations différentes, tout le cytoplasma. Dans les ganglions et dans les histiocytes conjonctifs, on n'a pu mettre en évidence ces lipoïdes. Ce fait nous permet de conclure que le manque d'emmagasinement du colorant colloïde dans ces cellules est dû à un blocage lipoïdique endocellulaire préalable, qui empêche la pénétration du colloïde injecté, non liposoluble.

2° *L'étude chimique du sang, au point de vue des lipoïdes,* nous donne 1,80 gr. ‰ de cholestérine totale, tant à la période afébrile qu'à la période fébrile de la maladie, et le chiffre de 1,55 ‰ de lipoïdes phosphorés (lécithines), le chiffre normal maximum étant environ 1,40 ‰.

Ces examens chimiques démontrent que, dans notre cas d'idiotie amaurotique, forme juvénile, quoique la quantité de lipoïdes intra-cellulaires est excessivement grande, nous n'avons pas un tableau sanguin de lipoïdémie qui traduirait un trouble primitif du métabolisme général des lipoïdes, fait qui pourrait gagner une certaine importance au point de vue de la pathogénie de l'idiotie amaurotique, et tend à prouver que les lipoïdes cellulaires ne proviennent pas de l'infiltration du protoplasme par des lipoïdes circulant dans le courant sanguin. Ce manque de lipémie a du reste été constaté dans la maladie de Niemann-Pick, simple

ou associée à l'idiotie amaurotique Tay-Sachs, dans certains cas. D'autre part, chez les omnivores, la lipoïdose expérimentale nous démontre comme il est difficile d'obtenir des infiltrations lipoïdiques intra-cellulaires constantes; en nourrissant des chiens avec des aliments mélangés avec de la cholestérine dissoute dans l'huile d'olive, on obtient une lipémie et une lipoïdémie prolongée, mais qui cessent quelques jours après l'arrêt de ce régime, sans infiltrations de lipoïdes dans les organes. Toutefois, nous avons pu constater que la lumière des vaisseaux de quelques organes est oblitérée par une masse amorphe donnant la réaction des lipoïdes par la méthode de Herzheimer.

3° *L'étude des formations figurées de la cellule nerveuse et des cellules parenchymateuses : chondriome, appareil réticulaire interne de Golgi, noyau, granulations oxydasiques, enclaves lipoïdiques.* — En ce qui concerne le chondriome, dans les cellules nerveuses, dans le foie, dans le rein, nous trouvons des lésions identiques : gonflement, fragmentation, lyse accompagnée d'une chromatophilie hématoxyphile du protoplasma et de l'apparition de grains lipoïdiques sudanophiles dans les régions cellulaires bien définies. Ces régions correspondent aux zones dans lesquelles les techniques d'imprégnation pour l'appareil de Golgi mettent en évidence des formations golgiennes grossières, granulaires, annulaires, irrégulières, ce qui nous permet de conclure que l'appareil réticulaire interne est bloqué et encrassé par les lipoïdes provenant probablement, en grande partie, du dédoublement du complexus lipoprotéique du chondriome.

*
**

Nous avons montré, dans nos travaux antérieurs, l'importance de l'altération des mitochondries au double point de vue d'un constituant morphologique cellulaire et de l'hérédité, parce que Meves a soutenu depuis longtemps l'intervention des mitochondries dans les phénomènes héréditaires, et d'autre part parce que, dans tous les cas d'idiotie amaurotique que nous avons examinés, les noyaux ne sont nullement altérés au commencement des lésions cellulaires, mais ces lésions apparaîssent relativement plus tard. Aussi, nous avons été amené à faire jouer, à ce constituant cellulaire, un rôle important dans la production des lésions et surtout dans l'apparition des lipoïdes et la surcharge des cellules nerveuses du névraxe en lipoïdes.

ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE ET DE MICROBIOLOGIE
Tome V, N° 3, Septembre 1932

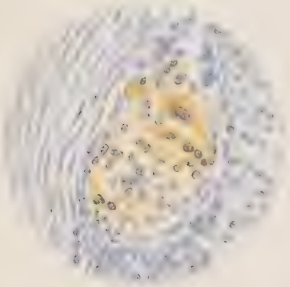


Fig. 13 A

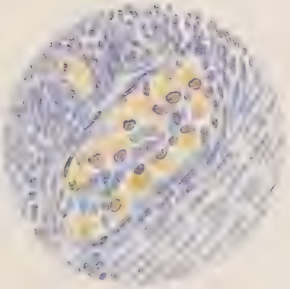


Fig. 13 B

Fig. 13. — Microganglions situés entre les couches musculaires de l'estomac (A), et de l'intestin (B). On y voit des cellules nerveuses surchargées de lipoïdes.

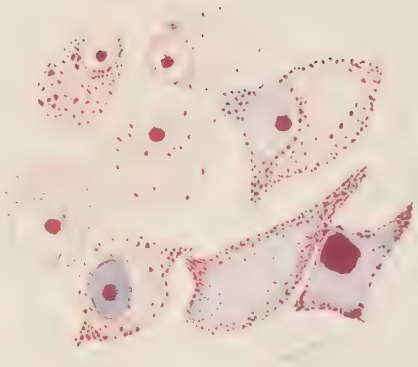


Fig. 14

Fig. 14. — Coupe de l'écorce traitée par la méthode de Bensley pour les mitochondries. La plupart des cellules sont gonflées. Les mitochondries sont granulaires, de volume inégal, clair-semées dans les cellules très gonflées, dans d'autres cellules il n'y a de mitochondries qu'à leur périphérie.

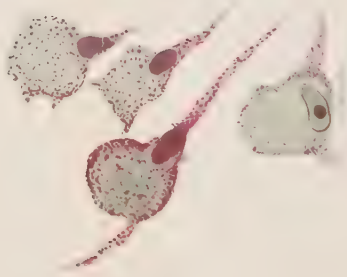


Fig. 15

Fig. 15. — Cellules de l'écorce cérébrale (troisième couche) traitées par la méthode d'Alzheimer, montrant dans les régions baloniformes quelques granulations fuchsinophiles isolées ou réunies. Elles sont plus nombreuses dans la dendrite principale. Les noyaux rétractés sont refoulés à la base des dendrites principales.

MASSON ET Cie, EDITEURS

Aussi, je crois qu'il serait utile de donner quelques détails sur la morphologie de transformation des mitochondries et aussi des canalicules de Golgi.

Caractéristiques morphologiquement, les mitochondries le sont aussi chimiquement. Elles possèdent une haute teneur en lipoïdes. Cette richesse en corps gras leur donne leurs réactions histochimiques, qui sont celles des complexes colloïdaux lipoprotéiques. Les lipoïdes des mitochondries sont dissous dans l'alcool et les solvants habituels des corps gras; ils sont insolubilisés par les sels de chrome; cette réaction constitue la base des méthodes habituelles de leur coloration.

Les mitochondries sont extrêmement sensibles aux actions autolytiques. Immédiatement après la mort de la cellule, elles dégénèrent en gonflant. Sous forme de bâtonnets, elles se granulisent et se résolvent en gouttelettes. En même temps, elles perdent leurs réactions histochimiques. Le gonflement des mitochondries semble à l'origine des granulations observées dans le mode de dégénérescence cellulaire appelée *tuméfaction trouble*. Cette extrême fragilité des mitochondries rend très difficile leur étude dans les conditions pathologiques.

Les mitochondries paraissent *organisées,* non assimilables à une enclave d'un lipoïde quelconque. Elles sont capables de croître, donc d'assimiler. Elles se divisent quand leur état d'équilibre avec le milieu ambiant se modifie. Elles peuvent modifier leur forme et évoluer ainsi morphologiquement, au moins dans certaines limites.

Les cellules du cerveau humain présentent à l'état normal des chondriocontes abondants, mais courts, et des granulations disséminées, comme l'ont contrôlé Ortiz, Picon et Perez Lista; il y a des cellules dont le chondrioconte est composé exclusivement de granules, fait dont l'interprétation est difficile, parce qu'il pourrait dépendre tout simplement de la fixation imparfaite ou tardive. Néanmoins, le fait que nous avons pu parfois fixer l'organe, après la mort, n'exclut pas la probabilité, comme l'admettent également les auteurs sus-cités, qu'il s'agirait d'une période distincte dans le fonctionnement de la cellule.

D'autre part, les chondriocontes font défaut au niveau du soi-disant lipochrome, ou bien on ne voit que quelques bâtonnets ou granulations qui persistent entre les granules de lipochrome.

Cette constatation met en discussion la relation entre le lipochrome et les mitochondries.

De leur côté, Picon et Lista ont constaté également la relation

entre les mitochondries et les lipoïdes. Dans le neurone, Marinescu et Tupa (1922) ont décrit des altérations; la dégénérescence vacuolaire a été observée aussi, par Picon et Lista, dans la paralysie générale progressive, dans quelques cellules de Purkinje du cervelet.

Le chondriome offrait, dans ces cas, l'aspect de filaments très larges qui occupaient à peu près tout le corps de la cellule; ils étaient orientés exclusivement dans un seul sens, à savoir dans la direction du grand axe de la cellule; ces filaments étaient pourvus d'abondants vacuoles de volume sensiblement égal, qui pénétraient aussi dans les grandes expansions protoplasmiques. Un examen approfondi de ces fonctions vacuolaires et de certaines inclusions lipoïdes imprégnées par les méthodes argentiques et virées au chlorure d'or, nous pourrait faire admettre qu'il y a une relation entre les deux.

L'état vacuolaire représenterait donc un processus régressif du chondriome, qui aboutirait à la formation de lipoïdes dans le protoplasma de la cellule nerveuse.

Sans doute, dans ce cas, nous ne possédons pas d'arguments décisifs pour le démontrer; même les formations vacuolaires du chondriome ne donnent pas des images trop précises, car elles s'imprègnent plus fortement sur les bords que dans le centre.

Nous devons à Cowdry un travail sur les rapports des mitochondries avec les neurosomes décrits par Held. Cet auteur, en faisant usage de l'hématoxyline ferrique de Heidenhain, appliquée aux pièces fixées dans un mélange de chrome et de sublimé, et surcolorées par la méthode de Held (érythrosine et bleu de méthylène), a pu distinguer, dans la cellule nerveuse, les neurosomes colorés en rouge, les mitochondries en noir et les corpuscules de Nissl teintés en bleu. Pour cette raison, il pense que les neurosomes et les mitochondries constituent des éléments distincts.

En effet :

1° Les neurosomes sont irréguliers de forme et de volume, tandis que les mitochondries offrent un volume régulier, affectent la forme d'un bâtonnet, et sont petites.

2° Les neurosomes sont accumulés au niveau de la colline de l'axone, les mitochondries restant disséminées dans tout le cytoplasma.

3° Les neurosomes sont plus nombreux.

Enfin, 4° ces neurosomes disparaissent presque toujours lorsqu'on emploie des fixateurs contenant de l'acide osmique. Ils se

colorent très bien après la fixation par le liquide de Carnoy.

Les conclusions de Biondi sont quelque peu différentes de celles de Cowdry. L'auteur italien, en utilisant la méthode de coloration préconisée par Alzheimer, a constaté, dans toutes les cellules du névraxe du lapin, des granulations, des bâtonnets et des filaments fuchsinophiles. Ces derniers se rencontrent dans la dendrite apicale des cellules pyramidales. L'auteur propose de remplacer le terme de granulations fuchsinophiles adopté par Alzheimer par celui de *corpuscules* fuchsinophiles, qui existent dans toute cellule nerveuse et ses dendrites. Dans le noyau et le cylindraxe, on ne voit pas de pareils corpuscules. Leur nombre varie d'une cellule à l'autre. Les cellules pâles et verdâtres en contiennent moins. Les corpuscules existent également dans les cellules névrogliques, soit autour du noyau, soit dans le syncytium. Biondi a étudié les modifications des corpuscules fuchsinophiles après la compression de l'aorte abdominale, et il a constaté qu'ils se présentent sous forme de granules nombreux, plus gros que ceux qui existent à l'état normal. Ils ont tendance à se réunir en petits groupes. Ils prennent une coloration rouge violacé. Biondi pense que les corpuscules fuchsinophiles qui existent normalement dans le cytoplasma nerveux et névroglique représentent son chondriome. En se basant sur ses recherches expérimentales, il lui paraît admissible que d'autres formations ayant une composition chimique identique au chondriome, mais d'origine différente, possèdent la propriété de se colorer, de la même façon, par la méthode d'Alzheimer.

Quelle que soit la relation des mitochondries avec les granulations fuchsinophiles, il y a évidemment une diminution de ces deux sortes de granules qui marche au prorata du gonflement cellulaire et de la quantité des lipoïdes (fig. 14 et 15).

Une question intéressante est celle des modifications des canalicules de Golgi. Il est admis d'une façon générale que les canalicules de Golgi sont constitués, au point de vue de leur structure chimique, de lipoïdes, car certains auteurs ont trouvé qu'ils se teintent par l'acide osmique, malgré que Paraf et Bergeau contestent ce fait, parce que l'acide osmique de la méthode de Kopsch n'est pas un réactif des lipoïdes. D'ailleurs, l'acide osmique imprègne l'appareil de Golgi surtout chez les animaux jeunes ; chez les animaux âgés, il faut employer un temps deux fois plus long.

D'autre part, d'après ces auteurs, les méthodes utilisées pour les lipoïdes donnent des résultats négatifs, mais Ciaccio a montré

que beaucoup de lipoïdes ont de l'affinité pour l'acide osmique.

On tend aujourd'hui d'admettre que l'appareil de Golgi a une composition lipo-protéique, opinion qui cadre mieux avec ses réactions.

Chez tous les animaux étudiés (cobayes, etc.), il y avait une relation réciproque entre les quantités relatives des mitochondries et des lipoïdes. On peut distinguer très bien les mitochondries typiques des lipoïdes typiques, mais il est impossible de déterminer si les stages intermédiaires sont de vraies mitochondries ou de vrais lipoïdes. Parallèlement à la modification de la forme des mitochondries qui se transforment en lipoïdes, on note une augmentation progressive de la résistance envers l'acide acétique. Les méthodes pour la mise en évidence des mitochondries ne font pas voir de différence entre les propriétés de fixation et de coloration des mitochondries et des lipoïdes, malgré que les globules des lipoïdes ne sont pas si vite détruits par la fixation dans le liquide de Carnoy ou de Zenker. En faisant varier, dans le liquide de Zenker, la concentration de l'acide acétique, on peut obtenir, dans les cellules du ganglion spinal du pigeon, une série de formes de passage entre les lipoïdes et pas de mitochondries d'une part, et les lipoïdes, plus la quantité normale de mitochondries, d'autre part.

Les mitochondries, comme les lipoïdes, se colorent avec le Nilblau B extra, dans les cellules de tous les animaux, mais les transformations des unes dans les autres ne peuvent pas être suivies. Probablement, cela est dû au fait qu'il est difficile de tenir sous observation la cellule nerveuse, pour un temps suffisamment long, approximativement dans les mêmes conditions qu'à l'état normal.

La notion du gluthation apporte un nouveau facteur en discussion en ce qui concerne les lésions de l'idiotie amaurotique.

Joyet-Lavergne soutient qu'on peut montrer expérimentalement que la dislocation et la destruction des éléments du chondriome entraîne, corrélativement, la disparition de la réaction du gluthation dans les cellules traitées. Cet auteur affirme que le pouvoir oxydo-réducteur du chondriome peut être envisagé, comme la présence du gluthation est une qualité du chondriome qui peut se vérifier expérimentalement, indépendamment de toute connaissance sur les qualités physiques ou chimiques du chondriome.

Aussi, Joyet-Lavergne attribue à ces constituants cytoplasmiques, dont la surface peut être le siège de phénomènes d'oxy-

dation et de réduction, un rôle important dans le métabolisme de la cellule.

Sur la relation des plastosomes avec les boules de graisse et les lipoïdes, plusieurs auteurs, tels que Metzner, Prenant, d'Agata, Biondi, Cowdry, ont attiré l'attention, ayant en vue diverses cellules de l'organisme, et dans cette direction ils ont été précédés par Altmann qui a indiqué, pour la première fois, le rôle de ses bioblastes dans le métabolisme des matières grasses.

Prenant a observé, dans la cellule hépatique, des gouttelettes de graisse qui ne seraient que des mitochondries transformées.

Pour expliquer cette transformation, on peut faire intervenir deux conceptions différentes : 1° celle qui tient compte des constatations de Mayer, Scheffer et Rathery, lesquels ont soutenu que toute mitochondrie est un complexus albumino-lipoïde, et avec cette opinion, j'ai interprété l'apparition des lipoïdes dans les différentes formes de l'idiotie amaurotique; 2° la conception de Regaud qui voit, dans le chondriome, un appareil de choix, de fixation et d'élaboration élective.

La mitochondrie, comme le chondrioconte, ont en cette conception la valeur de l'électosome, c'est-à-dire sélectionnant et fixant en leur substance propre les matériaux lipoïdes de plus en plus abondants et peu à peu rassemblés en une sphérule qui finit par s'individualiser en une vésicule lipoïde.

Les lipoïdes constituant la graisse neutre future, s'accumulant au centre de plus en plus, subissent une maturation progressive.

Au moment donné, qui est celui de la maturation parfaite, le complexe albumino-lipoïde cortical se dissocie et disparaît; la mutation de la mitochondrie, en une boule de graisse neutre, est terminée.

A son tour, Cowdry a abordé également le rapport qui existe entre la quantité de mitochondries et la quantité de graisse. Le rapport est inverse.

La diminution des oxydations favorise la déposition de la graisse, et l'augmentation des oxydations fait diminuer sa quantité. Ceci suggère l'idée qu'il doit avoir une certaine relation entre la quantité de mitochondries et le degré d'oxydation. D'ailleurs, leur abondance pendant la période active de la vie cellulaire, lorsque la respiration est intense, conduit à la même conclusion.

III

MÉCANISME DES LÉSIONS DANS L'IDIOTIE AMAUROTIQUE

Il ressort des recherches de Schäffer et de ses élèves, et surtout en envisageant les lésions du cervelet, qu'il n'y a pas d'identité des altérations des cellules nerveuses dans la maladie de Niemann-Pick et dans l'idiotie amaurotique du type Tay-Sachs.

En effet, dans la maladie de Niemann-Pick, d'après ces auteurs, est pris le système réticulo-endothélial dérivé du mésoderme, tandis que, dans la maladie de Tay-Sachs, les lésions des cellules nerveuses, qui intéressent tout le névraxe, sont primitives pour la raison que, dans cette maladie, sont atteints les éléments dérivant de l'ectoderme.

Ensuite, les lésions de la maladie de Tay-Sachs sont ubiquitaires, intéressant non seulement les cellules nerveuses, mais aussi la névroglie qui est atteinte non seulement primitivement, mais aussi d'une façon secondaire par le processus pathologique.

En dehors du dépôt des lipoïdes, qui est la conséquence de l'altération primitive du hyaloplasma, Santha a trouvé, surtout dans les cellules de Purkinje, de grosses inclusions de nature protéique qui ont été considérées à tort, par Somoza, comme de véritables noyaux.

Le dépôt de lipoïdes phosphorés ne constitue pas un phénomène caractéristique pour la maladie de Tay-Sachs, car on peut le voir dans des maladies exogènes, comme c'est le cas pour l'atrophie jaune du foie, et dans d'autres maladies; mais, ici, la localisation des cellules nerveuses atteintes est toute différente et intéresse le striatum.

En conclusion, Lehoczsky, élève de Schaeffer, affirme que la dégénérescence lécithinoïde peut être retrouvée dans toutes les cellules nerveuses. Mais il semble que la toxémie, d'origine hépatique, peut être un facteur du premier plan dans cette dégénérescence.

Aussi l'auteur, comme Schäffer d'ailleurs, n'accorde pas une grande importance aux dépôts de lipoïdes dans l'idiotie amaurotique, car pour eux, dans l'idiotie amaurotique, le phénomène principal est représenté par le gonflement dû à la modification du hyaloplasma.

J'ai soutenu, dans mes travaux antérieurs, que cette altération primitive du hyaloplasma, considérée comme base histologique de l'idiotie amaurotique, est une notion caduque, car le gonflement des cellules nerveuses n'est pas un phénomène primitif, et qu'il s'agit là d'un trouble d'osmo-nocivité dû aux phénomènes de désintégration chimique qui se déroulent dans les cellules du névraxe, dans le système sympathique et les ganglions microsympathiques, phénomène plus accusé dans les cellules de l'écorce cérébrale, et particulièrement dans certaines cellules pyramidales.

Cette osmo-nocivité, résultant du travail de désassimilation des protéïques et des lipoïdes, est un phénomène d'ordre physico-chimique dû à l'hydrolyse.

Au fur et à mesure que la désintégration de ces substances fait des progrès, la tension osmotique augmente et aboutit même à la cytolyse.

Ce sont là des phénomènes irréversibles, non seulement dans le sens énergétique, mais aussi dans le sens de la biochimie.

En effet, le travail de simplification qui démolit les grosses molécules colloïdes des lipoprotéides des substances albuminoïdes et même des glycoprotéïdes, comme nous l'avons montré pour la première fois dans l'idiotie de Tay-Sachs, n'est pas suivi d'un travail de synthèse qui réunisse plusieurs molécules en une seule, synthèse qui maintienne l'équilibre biochimique; en conséquence, la morphologie normale de la cellule, et d'autre part le gonflement de la cellule, correspondent tout simplement à une réaction consécutive et à la solution de continuité d'un nerf périphérique que j'ai désignées du nom de réaction à distance, phénomène que certains auteurs appellent dégénérescence de Nissl ou axonale. Mais, dans ce cas, la dissolution de la substance chromatophile est centrale et non pas périphérique, comme celle rencontrée dans l'idiotie amaurotique. Cette chromatolyse centrale correspond aussi à un phénomène d'hydrolyse, ou plus exactement de protéolyse. Notre hypothèse, non seulement est en concordance avec les données de la chimie physique et de la biochimie, mais elle envisage toutes les actions physico-chimiques qui se déroulent, à l'intérieur de la cellule nerveuse, dans les diverses formes de l'idiotie amaurotique. En effet, il ne s'agit pas tout simplement d'un dépôt de lipoïdes qui est toujours un phénomène secondaire à la désintégration des lipoprotéides et des lipoïdes, mais aussi d'une protéolyse qui se traduit, au point de vue histologique, par la chromatolyse.

Enfin, dans la forme infantile, il y a un désordre du métabolisme des hydrocarbonés.

Les recherches de Soula et les nôtres, en collaboration avec M^me^ D^r^ Adèle Draganesco, ont montré que les phénomènes que nous avons baptisés du nom de chromatolyse relèvent de la désintégration de la substance protéique. D'autre part, à l'aide des mensurations, nous avons montré que l'osmo-novicité et, par conséquent, l'augmentation de la tension osmotique des cellules nerveuses, est plus accusée dans l'idiotie Tay-Sachs, et ceci n'est dû qu'à l'hydrophilie plus accentuée des cellules nerveuses jeunes et à l'intensité du processus de désintégration beaucoup plus intense dans l'idiotie du type Tay-Sachs.

Donc, ce qui caractérise, au point de vue biochimique, les altérations de l'idiotie amaurotique sous diverses formes, c'est un phénomène d'hydrolyse intéressant toutes les constituantes du protoplasma cellulaire, lésion qui, au commencement, est partielle et s'étend ensuite de la surface de la cellule vers la profondeur.

C'est ainsi que nous interprétons le fait que, dans les grosses cellules de la moelle et du bulbe, il y a une chromatolyse périphérique.

On sait d'ailleurs que M. Schäffer avait fait, de cette chromatolyse périphérique, une caractéristique de l'hérédo-dégénération, pour la distinguer de la chromatolyse centrale ; mais à la suite des objections de Sturmann, qui nie la valabilité de cette distinction pour toutes les espèces cellulaires, car, après la section du nerf vague, cet auteur a remarqué que la chromatolyse des cellules du noyau ambigu commence à la périphérie, M. Schäffer a abandonné sa manière de considérer les deux espèces de lésions, à savoir : les lésions exogènes traumatiques et celles endogènes de l'idiotie amaurotique.

Il admet que, dans les deux cas, les neurones réagissent sous forme de gonflement; mais, dans le cas de dégénérescence endogène progressive, la lésion est irréparable.

Or, l'analyse du fait que la cellule nerveuse se tuméfie à la suite d'un traumatisme ne laisse pas le moindre doute que c'est là une manière de réagir, c'est-à-dire un phénomène secondaire dont le mécanisme est le même dans les altérations exogènes et endogènes; que, par conséquent, le gonflement, c'est-à-dire l'altération du hyaloplasma n'est peut-être qu'un phénomène consécutif à un trouble de l'équilibre de la tension osmotique, produit par l'hydrolyse. C'est une réaction nécessaire par laquelle la cel-

lule tâche de réparer ses altérations, comme c'est le cas pour la réaction du traumatisme nerveux, ou bien un phénomène défensif quand il s'agit de l'osmo-nocivité qui intervient dans les lésions endogènes de l'idiotie amaurotique.

Comme nous l'avons soutenu dans des publications antérieures, l'équilibre des échanges nutritifs des cellules nerveuses est réglé par les ferments et, à ce point de vue, l'opinion de M. Bielschowsky concorde avec la nôtre. Mais, grâce à l'emploi des méthodes histologiques plus fines, telles que la méthode de von Graeffe pour les granulations d'oxydases, celles de Perls et de Maccalun pour la mise en évidence de l'ion Fer, celle de Best pour le glycogène, et de diverses méthodes pour la coloration ou l'imprégnation des mitochondries, nous avons émis une hypothèse de nature à approfondir le mécanisme intime des phénomènes physico-chimiques qui se passent dans l'intérieur de la cellule nerveuse, et nous avons soutenu que tous ces phénomènes d'hydrolyse sont une espèce de digestion *in vivo*, c'est-à-dire un processus d'autolyse.

En effet, dans le cas que nous publions actuellement, comme dans les trois précédents, nous avons été frappé par la diminution progressive des granulations d'oxydases, par la disparition de l'ion Fer dans les régions où se déposent les lipoïdes, et par les transformations successives des mitochondries qui prennent part à la formation des lipoïdes. De plus, dans la forme Tay-Sachs, il s'accumule, dans les cellules nerveuses, du glycogène.

Il résulte de l'analyse de ces faits qu'il y a, dans les cellules nerveuses, des troubles profonds du mécanisme des oxydations qui président à l'équilibre normal des phénomènes caractérisant la vie cellulaire.

Les granules colloïdaux, dont j'ai donné une description dans mes publications antérieures, sont le siège de phénomènes d'oxy-réductions, et il est plus que probable qu'entre ces granules et le soi-disant hyaloplasma, il y a des interactions qui maintiennent l'équilibre de la structure nerveuse et nous expliquent la réversibilité des phénomènes physico-chimiques qui se déroulent à l'intérieur de la cellule nerveuse.

Sans doute qu'au point de vue énergétique, on ne peut pas parler d'une réversibilité parfaite, car tous les phénomènes du métabolisme intra-cellulaire commencent par une action chimique et finissent par un dégagement de chaleur, énergie dégradée ; par conséquent, il y a une dégradation de l'énergie, dégradation qui s'accentue avec l'âge et donne naissance au lipochrome qui, lui-

même, contient de la lécithine, et à ce point de vue il y a une espèce de mort progressive locale qui gagne petit à petit, au fur et à mesure que l'équilibre de la cellule est troublé.

Or, cet équilibre est maintenu par la réversibilité des phénomènes de l'hydrolyse et ceux de l'oxydation, qui sont à la base du potentiel des oxydo-réductions.

Que se passe-t-il dans l'idiotie amaurotique ?

A la suite de la diminution progressive des ferments oxydants, l'activité des ferments protéiques, lipolytiques, prédomine et, comme il n'y a pas de réversibilité, nous assistons à la désintégration progressive des protéines et des lipoïdes qui, dans la forme tardive (Vogt-Spielmayer, Bielschowsky, Kufs, etc.), se caractérisent par la formation du pigment jaune ou lipochrome où, en dehors de la lécithine, il y a des produits finaux de la désintégration des lipoïdes.

RECHERCHES HISTOPATHOLOGIQUES SUR L'HYPERTROPHIE DES PETITES LÈVRES

par

Dr Marthe TRANCU-RAINER

L'étude histologique de la nymphe hypertrophiée dans 5 cas (dix-neuf, vingt-deux, vingt-cinq, quarante-huit et cinquante-six ans), m'a permis de relever quelques faits qui ne sont pas dénués d'une signification plus générale.

Les pièces étudiées ont été prélevées, la première (dix-neuf ans) quatre heures après la mort, la troisième (vingt-cinq ans) par voie opératoire, les trois autres à l'occasion de la nécropsie.

La femme morte à vingt-deux ans était enceinte à terme.

Les dimensions des pièces prélevées étaient presque les mêmes: la hauteur de 3 1/2 à 4 centimètres, l'épaisseur d'environ 5 millimètres (après fixation à la formaline).

J'ai usé aussi de la méthode des coupes sériées, là où il en était besoin, surtout dans l'étude de la régression des glandes sébacées.

Je dois les microphotographies de mes préparations à M. le docteur St. Milcu, assistant à l'Institut d'Anatomie et d'Embryologie.

I

PROLIFÉRATIONS ÉPITHÉLIALES

On sait que dès la puberté, et pendant toute la période de maturité sexuelle, il y a une prolifération active du revêtement épithélial de la nymphe. Etudiée dans mes cas, cette prolifération présente deux degrés, selon qu'elle est purement épithéliale ou

qu'elle intéresse le complexus dermo-épidermique ou entier (fig. 1 et 2).

Dans ce dernier cas, il en résulte des saillies tégumentaires, plus nombreuses sur le bord libre et sur la face latérale de l'organe, de forme et de dimensions variables; les plus hautes atteignent environ 1 millimètre.

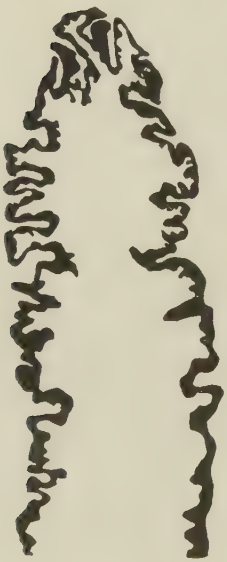


Fig. 1. — *Nymphe hypertrophiée (25 ans).* Coupe antéro-postérieure, demi - schématique, montrant l'épithélium en noir. Les glandes sébacées, qui occupent environ les deux tiers de l'épaisseur de la nymphe, ne sont pas figurées. Saillies tégumentaires.

Elles contiennent un certain nombre de papilles épithéliales et conjonctives.

On trouve des mitoses dans les pièces dont l'état de conservation se prêtait à cette recherche (dix-neuf et vingt-cinq ans), Elles sont bien nombreuses, surtout dans le cas de vingt-cinq ans, et ce qui est intéressant, c'est qu'elles se trouvent répandues dans toutes les couches malpighiennes et même dans la couche sous-jacente aux cellules granuleuses. Fait à rapprocher de celui publié par Thüringer en 1925, concernant le cuir chevelu de l'homme. A noter aussi la présence de quelques figures d'amitose, telles que les a décrites H. Hoepke, dans la partie apicale de certains papillomes cutanés. Conséquemment, le nombre des rangées cellulaires de l'épithélium augmente ; nous en avons compté plus de trente rangées; dans la nymphe de la femme de vingt-deux ans, avec grossesse à terme, il y en avait même jusqu'à cinquante.

Cette augmentation n'intéresse pas au même degré les différentes couches caractéristiques du revêtement épithélial. Parfois, c'est la couche à cellules épineuses qui est hyperplasiée (fig. 2), et d'autres fois c'est la couche granuleuse, à kératohyaline, qui, de 3 ou 4 rangées cellulaires qu'elle compte normalement, arrive à en présenter une vingtaine. Dans ces foyers d'hyperplasie, les cellules ne présentent plus leur tendance habituelle à s'aplatir vers la surface, mais restent volumineuses ou arrondies. Cette disproportion des couches successives démontre que la prolifération épithéliale ne se fait pas d'une façon homogène et

générale, mais, au contraire, qu'elle est localisée et parcellaire.

Les auteurs ne décrivent pas aux petites lèvres normales un stratum lucidum. Mais sur mes pièces, en utilisant les procédés excellents de Martinotti pour différencier l'éléidine ou bien les couches de transition pré- et postéléidiniques, j'ai pu constater,

Fig. 2. — *Nymphe hypertrophiée (19 ans)* (color. van Gieson). Papille en forme de calice. Prolifération surtout des cellules épineuses.

entre la couche des cellules à kératohyaline et celle des cellules kératinisées, la présence du stratum lucidum. Il est plus développé à dix-neuf ans, moins à vingt-cinq ; vers la ménopause, il est réduit à 2 assises cellulaires. Son développement est indépendant de celui des couches sous-jacentes, de sorte qu'on peut trouver une couche à éléidine bien développée, les autres étant réduites.

Quant à la couche cornée, elle est plus développée dans un cas (jusqu'à 14 rangées cellulaires), qu'on ne le décrit ordinairement dans les cas similaires. Dans l'un de mes cas (femme de vingt-cinq ans), j'ai recherché la présence des oxydases. Elles se trouvent en abondance dans les cellules de la couche germi-

Fig. 3. — *Nymphe hypertrophiée (25 ans)* (color. Azan, Heidenhain).
L'axe conjonctif de la nymphe.
S, une des glandes sébacées que l'on voit dans cette figure.

native, depuis la rangée la plus profonde jusqu'à la plus superficielle. Dans les glandes sébacées de ce cas, il n'y en a que dans les cellules périphériques. Dans le chorion, il y en a surtout dans les mélanoblastes. De même, il y a de la graisse colorable au Scharlach dans tous les étages de l'épithélium.

II

LES PHÉNOMÈNES DE RÉGRESSION DES GLANDES SÉBACÉES

Ces glandes apparaissent dans la nymphe à l'âge de trois à six ans, mais c'est à l'âge de la puberté que leur développement se complète (fig. 3). Leur régression commence à la ménopause et

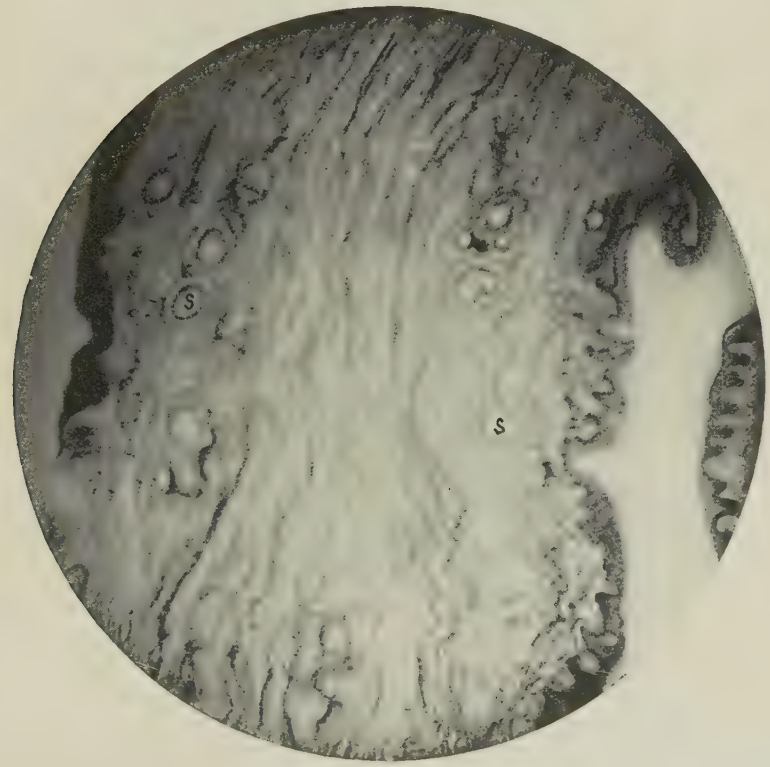


Fig. 4. — *Nymphe hypertrophiée (56 ans)* (color. Van Gieson).
On voit, dans cette coupe, une douzaine de lobules sébacés atrophiés (*S*) au sein du tissu conjonctif.

progresse jusqu'à leur disparition totale (fig. 4). Je n'ai trouvé nulle part une étude détaillée sur les particularités de cette régression. Voilà les faits que j'ai constatés dans deux cas (quarante-cinq et cinquante-six ans), à l'aide de coupes sériées.

Dans mes pièces, la plupart des glandes n'existent plus. Celles qui restent présentent des étapes variées de régression, dont les caractéristiques sont les suivantes: dans l'adénomère, les cellules basales qui représentent la couche germinative continuent de se multiplier, mais les éléments cellulaires qui en dérivent ne subissent plus la différenciation spécifique et, en se substituant

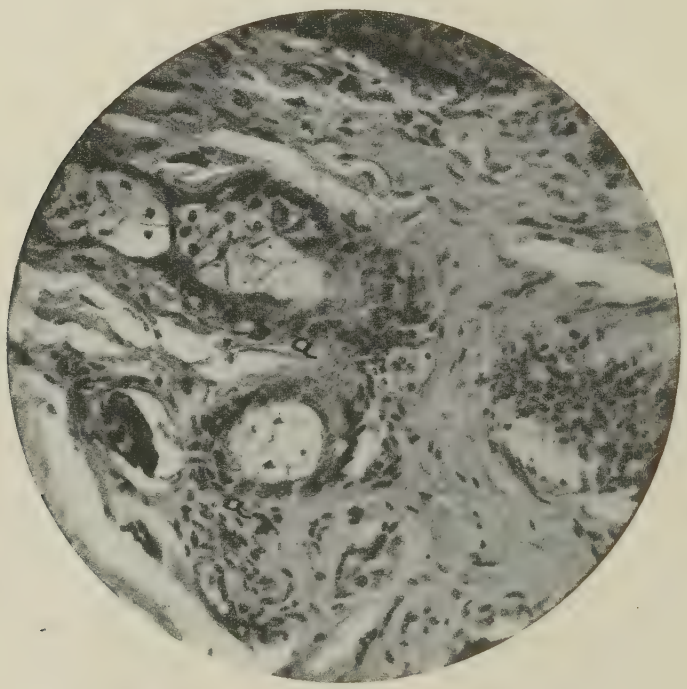


Fig. 5. — *Nymphe hypertrophiée (56 ans)* (color. Van Gieson).
Première phase de la régression des glandes sébacées.
a. multiplication des cellules basales des glandes sébacées.

aux cellules sébacées qui, graduellement, deviennent moins nombreuses et moins volumineuses, arrivent à constituer des cordons épithéliaux pleins (fig. 5).

Dans les canaux excréteurs principaux et secondaires, l'oblitération est le fait de l'épithélium pavimenteux stratifié, qui prolifère et qui présente dans les différentes glandes des étapes différentes de différenciation. Tel conduit glandulaire est oblitéré par des cellules épineuses, tel autre par des cellules granuleuses

à la kératokyaline, tel autre enfin par des cellules contenant de l'éléidine ou de la kératine (fig. 6, 7, 8, 9).

Ces phénomènes constituent la première phase de la régression

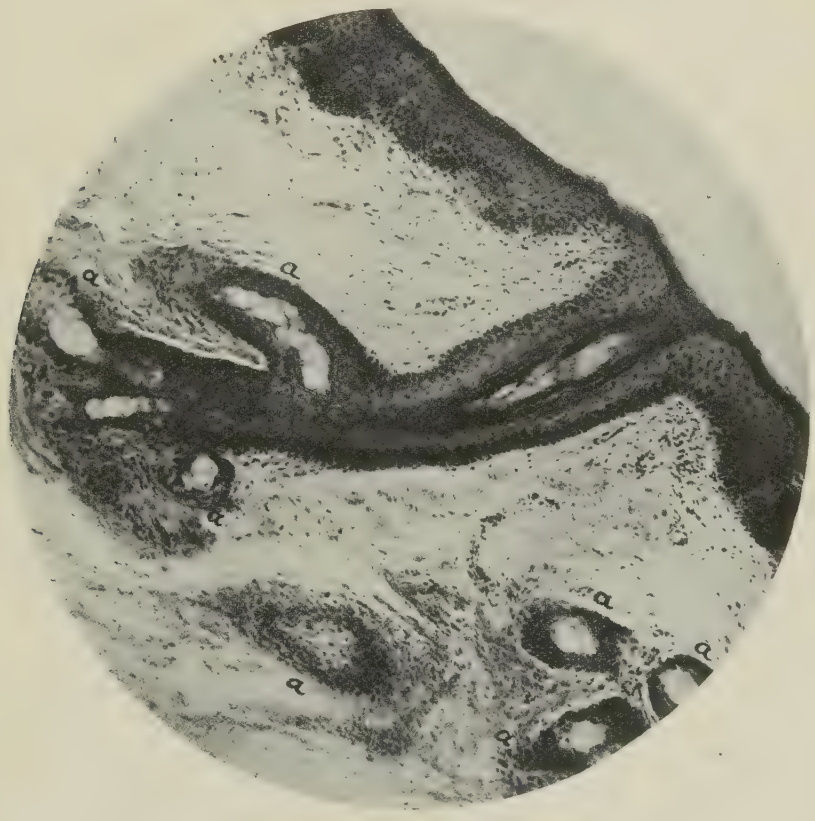


Fig. 6. — *Nymphe hypertrophiée (56 ans)* (color. Van Gieson).
a, lobules sébacés en voie d'atrophie, présentant la prolifération de la couche germinative, non suivie de différenciation spécifique. Le canal excréteur est obstrué en bas par des cellules épineuses, en haut par la couche cornée.

et transforment les organes glandulaires en boyaux épithéliaux (fig. 10).

Le morcellement de ces boyaux, par l'invasion du tissu conjonctif (fig. 11), qui les séparera aussi du revêtement épithélial superficiel, sera le fait de la deuxième phase, qui mènera à la

disparition progressive et totale des nids épithéliaux résultants, dont les cellules, avant la fin, se présentent toutes déformées, irrégulières, petites, à noyaux pycnotiques.

Le tissu conjonctif envahissant est plus lâche, plus vasculaire,

Fig. 7. — *Nymphe hypertrophiée (56 ans)* (color. Van Gieson).
a, oblitération du canal excréteur par des cellules à kérato-hyaline et, plus haut, par des cellules à kératine. *S*, quelques-uns des lobules sébacés présentant des degrés divers d'atrophie avancée.

plus riche en lymphocytes, mais il contient moins de fibroblastes. Nous y notons encore la présence de mastzellen, de cellules migratrices en repos (Maximow), de rares polyblastes (Maximow), de plasmocytes et de leucocytes dont quelques-uns éosinophiles.

Les fibres élastiques sont plus nombreuses dans la nymphe à la ménopause (fig. 12).

Pour ce qui est des glandes sébacées *de la peau*, ce qu'on sait, depuis les recherches de Pinkus (1897) et de Fusari (1899), c'est que dès que ces glandes ne sécrètent plus, elles sont remplacées par des cordons pleins, sans autres détails.

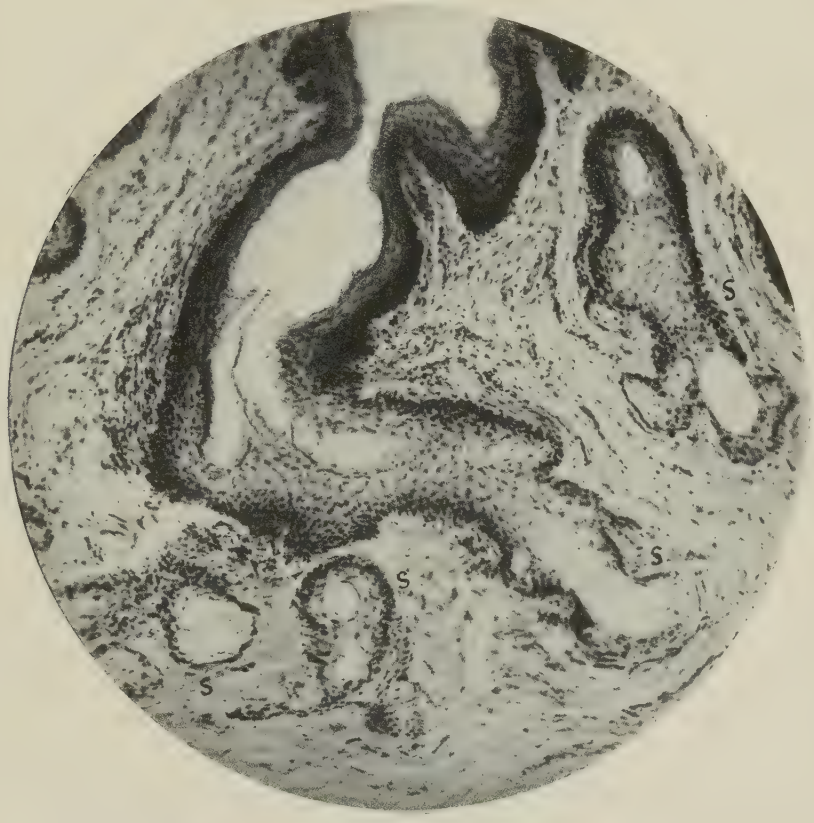


Fig. 8. — *Nymphe hypertrophiée (56 ans)* (color. Van Gieson). *S*, régression des glandes sébacées, à des degrés variés.

III

GLANDES SÉBACÉES INTRA-ÉPITHÉLIALES DANS LA NYMPHE

Dans la peau, Ranvier (1896) et Fusari (1906) ont signalé l'existence de cette forme assez rare de glandes sébacées. Pour la nymphe, je ne trouve aucune information à ce sujet. C'est

pourquoi il me paraît intéressant de donner les renseignements qui suivent, basés sur des observations personnelles. J'ai constaté plusieurs fois l'existence, au sein de l'épithélium, d'un canal excréteur, conduisant à deux lobules sébacés, présentant un

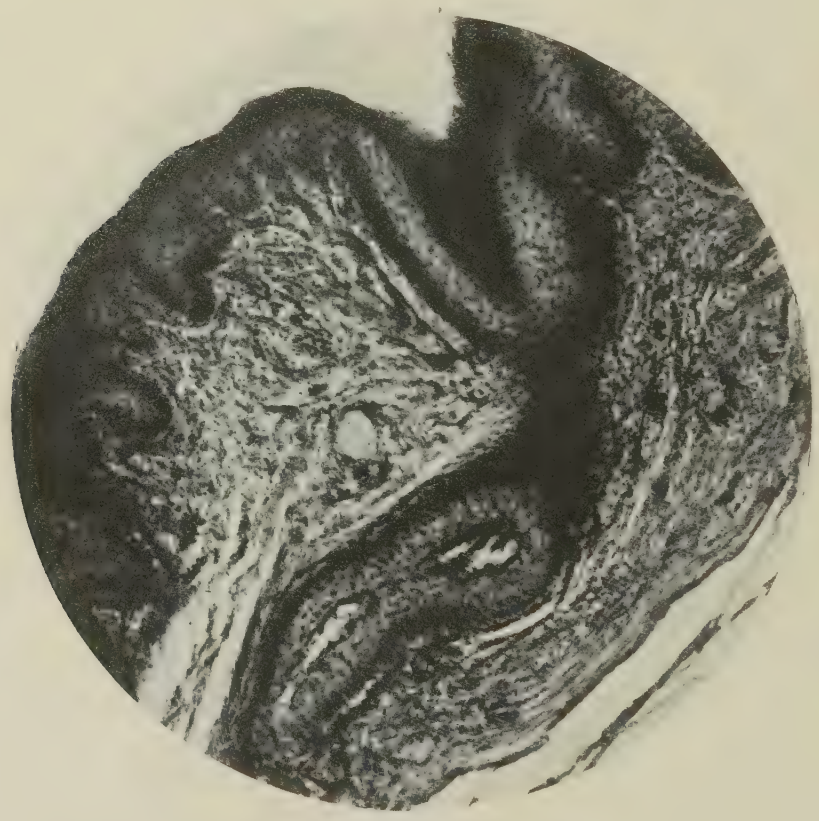


Fig. 9. — *Nymphe hypertrophiée (56 ans)* (color. Van Gieson).
a, cellules basilaires proliférées interrompant la continuité d'un conduit excréteur.

aspect typique, mais restant séparés du derme par une couche épithéliale, formés de cellules basales aplaties, sans trace de pigmentation.

Entre celle-ci et la rangée voisine de cellules basales typiques, des formes de transition.

La disposition et l'aspect général de ces lobules, je le répète, à

cellules sébacées bien caractéristiques, rappellent ceux des bourgeons épidermiques qui apparaissent dans les petites lèvres, au quatrième ou cinquième mois de la vie extra-utérine, et qui ont été considérés comme des rudiments de poils.

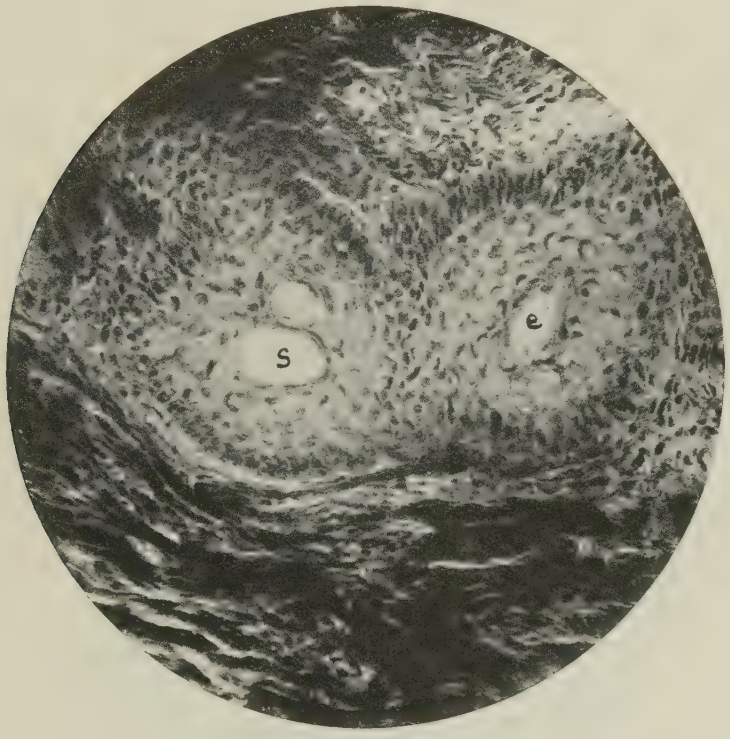


Fig. 10. — *Nymphe hypertrophiée (56 ans)* (color. Van Gieson)
s, prolifération des cellules basilaires dans un acinus, non suivie de différenciation sébacée ; au centre, quelques cellules sébacées réduites. *e*, conduit excréteur ; au centre, des cellules granuleuses.

IV

LE PIGMENT DANS L'ÉPITHÉLIUM ET DANS LE TISSU CONJONCTIF

Le pigment du revêtement cutané du corps a été beaucoup étudié dans ces dernières années.

Pourtant, les deux points essentiels du problème — la genèse du pigment et le lieu de sa production — sont encore contro-

versés. Tout d'abord, la constitution chimique de la mélanine n'est pas suffisamment connue. C'est pourquoi on ne sait même pas s'il y a une seule mélanine ou plusieurs. Puis, on sait bien que l'apparition du pigment exige la présence d'au moins une

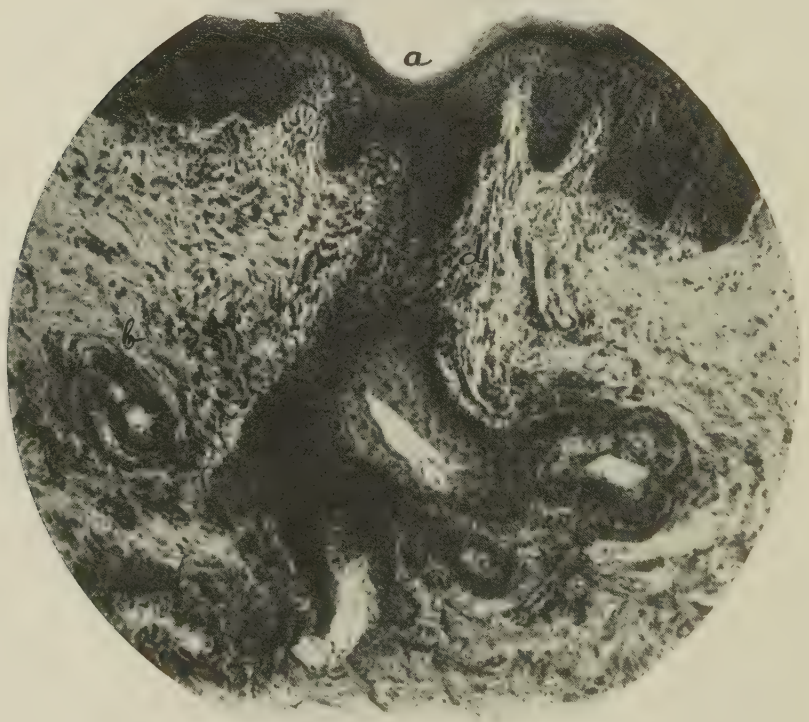


Fig. 11. — *Nymphe hypertrophiée (56 ans)* (color. Van Gieson).
a, abouchement à la surface de la nymphe du canal excréteur, présentement oblitéré. *b*, adénomère, isolé du canal excréteur par l'envahissement du tissu conjonctif *c*. *d*, amincissement du cordon épithélial remplaçant le conduit excréteur.

substance « chromogène », ou « mélanogène », et d'un ferment oxydant; mais le désaccord commence dès qu'il s'agit d'identifier ces substances.

A l'instar de ce qui se passe chez certains invertébrés (insectes, céphalopodes), d'aucuns (par exemple Przibram, Onslow, Gortner,

Gessard) pensent que chez les vertébrés, aussi, le pigment est dû à l'oxydation de la thyrosine par la thyrosinase.

D'autres pensent à d'autres mélanogènes, comme le tryptophane, des dérivés pyrrholiques, l'adrénaline, etc. Les recherches de B. Bloch ont imposé au premier plan des discussions un dérivé de la pyrocatéchine, le dopa (3,4 dioxyphénylalanine). A l'aide

Fig. 12. — *Nymphe hypertrophiée (56 ans)* (color. à l'orcéine acide). On voit une douzaine, environ, de lobules sébacés en état d'atrophie plus ou moins avancée, au milieu du stroma conjonctif très riche en fibres élastiques.

de cette substance, dont la présence dans nos tissus n'a jamais été démontrée, Bloch met en évidence dans certaines cellules des coupes, qu'on a imbibées de dopa, la présence d'une oxydase qui réagit d'une façon à peu près spécifique sur cette substance.

Cette méthode de Bloch jouit actuellement d'une grande vogue, parce qu'elle rend le grand service de mettre en évidence, dans des coupes, les cellules qui possèdent des oxydases en général, mais spécialement la « Dopa-oxydase ».

Réagiront donc, surtout, les éléments capables de produire la mélanine. Les cellules, chargées de granules de pigment, mais qui ont perdu de façon définitive ou temporaire la faculté d'en produire encore, donneront une réaction négative.

A l'aide de cette méthode, on a bien démontré que les cellules de l'épiderme, surtout les cellules basales, sont des « mélanoblastes ». Ce sont même les premiers mélanoblastes qui apparaissent dans la peau de l'embryon humain.

Réagissent aussi ces curieux éléments cellulaires, que certains auteurs identifient avec les « cellules de Langerhans », aux

Fig. 13. — *Nymphe hypertrophiée (25 ans)* (demi-schématique). Distribution variable du pigment dans les saillies tégumentaires. *a*, revêtement épithélial. *b*, axe conjonctif. *p*, couche pigmentée de l'épithélium.

prolongements ténus et ramifiés, s'insinuant dans les interstices cellulaires de la couche de Malpighi, et dont Caudière, et surtout Masson, veulent faire les seuls producteurs du pigment de l'épiderme.

Dans le derme, d'après Bloch, réagissent seulement certaines cellules, situées dans les couches profondes, rares chez l'homme, identiques aux cellules pigmentaires des taches mongoliennes; tandis que les cellules pigmentaires des couches superficielles, qui jamais ne donnent de réaction positive, seraient seulement des « mélanophores » dans la stricte acception du mot, porteurs de pigment qui proviendrait de l'épithélium et serait incorporé à ces mélanophores par phagocytose (voir l'exposition ample de toute la question dans B. Bloch, in *Anatomie der Haut de Bloch, Pinkus, Spalteholz,* pp. 434-533).

D'après Masson, les cellules ramifiées, dendritiques, de l'épi-

derme, seraient en continuité protoplasmique, d'une part, avec les cellules de la couche malpighienne ; d'autre part, par les cellules réticulo-endothéliales du derme, avec l'endothélium des capillaires sanguins. Par cette dernière voie, elles puiseraient du sang le matériel avec lequel elles élaboreraient le pigment, qu'elles céderaient après — cellules amboceptrices (Masson) — à l'épithélium malpighien. C'est la conception du « réseau trophomélanotique ».

Point n'est besoin d'insister, pour montrer à quelles discussions doit inciter cet état de la question.

Fig. 14. — *Nymphe hypertrophiée (25 ans).*
a, surface libre de l'épithélium. *b*, chorion de la muqueuse.
p, couche pigmentée basale de l'épithélium.

Nous nous contenterons de confronter les constatations faites sur notre objet d'étude, avec celles qu'on a faites sur la peau.

D'abord, nous avons constaté l'existence, dans les petites lèvres, des mêmes éléments cellulaires pigmentés, qui se trouvent d'une façon typique dans la peau humaine. C'est dire que les mélanoblastes profonds du derme, caractéristiques de la tache mongolienne, font défaut.

En détail, nous avons fait les constatations suivantes :

Dans l'épithélium, la distribution du pigment est d'une inégalité frappante, ainsi que le montrent les figures demi-schématiques 13 et 14, et ne permet pas d'établir une règle générale, sauf, peut-être, le fait que souvent, dans la région du sommet des papilles épithéliales, les cellules paraissent plus riches en pigment. Il y a, à ce qu'il paraît, un rythme dans l'activité mélanoblastique, pour chaque parcelle microscopique de tissu. Ce rythme, en tout cas, n'est pas en rapport avec l'intensité de la

prolifération épithéliale, car nous pouvons trouver des papilles épithéliales d'un développement sensiblement égal, pigmentées d'une façon très inégale. Dans l'épithélium de la peau, on a décrit des différences semblables. Il pourrait bien s'agir,

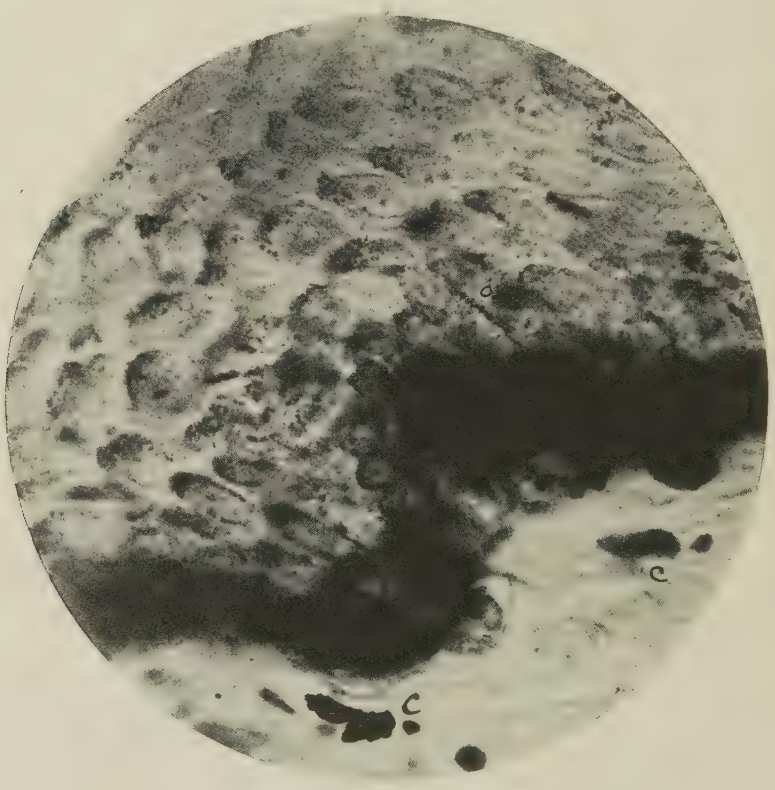


Fig. 15. — *Nymphe hypertrophiée (25 ans)* (imprégnation à l'argent, procédé de Schultze).

La couche basale pigmentée de l'épithélium se présente sous l'aspect d'une bande noire, dans laquelle on devine la place occupée par les noyaux des cellules. *a*, prolongement mélanifère d'une cellule ramifiée, insinué dans les interstices cellulaires. *c*, chromatophores du derme. Au-dessus de la bande noire, au sein de l'épithélium, on voit un nombre considérable de granules pigmentaires.

entr'autres, de différences locales du *p*H, qui joue un rôle important dans la production du pigment.

Le bord libre et le côté externe de la nymphe paraissent plus richement pigmentés que le reste.

Le pigment se présente sensiblement avec le même aspect, dans les cellules dendritiques, que dans les cellules malpighiennes; des granules plutôt fines, de calibre assez uniforme Naturellement, c'est la couche basale du réseau de Malpighi qui est la plus pigmentée. Le pigment peut remplir les cellules d'une

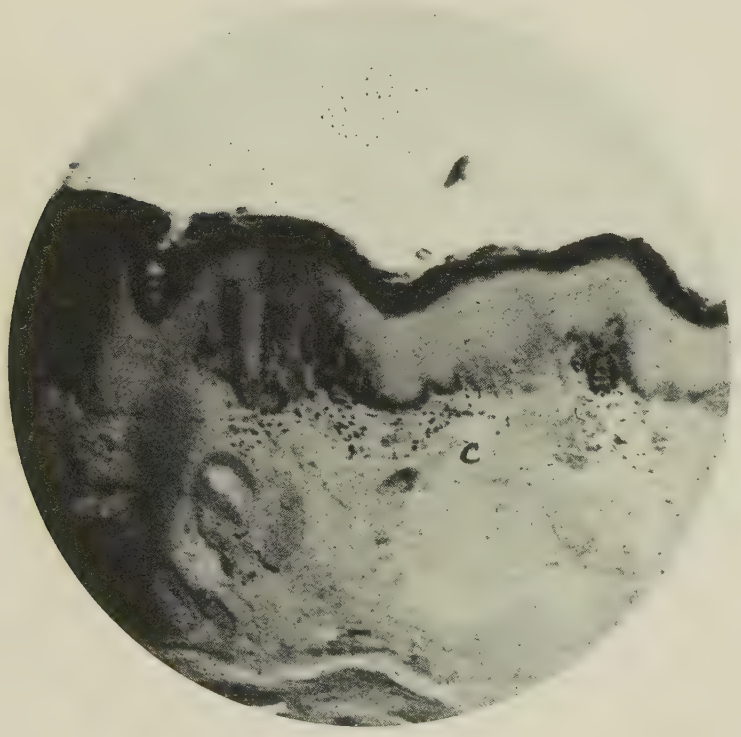


Fig. 16, — *Nymphe hypertrophiée (19 ans)* (color. au Giemsa)
c, chromatophores dans les couches superficielles du chorion.

façon uniforme, mais le plus souvent il forme un capuchon susnucléaire, dont la concavité regarde le noyau. Quelquefois, nous avons vu le capuchon pigmentaire coiffant une mitose.

Quelle signification pourrait bien avoir ce rapport topographique du pigment avec le noyau ? En absorbant les rayons thermiques, lumineux, ultra-violets, il pourrait jouer le rôle d'un écran protecteur surtout contre les deux dernières catégories de

radiations, qu'il transforme, d'ailleurs, en chaleur. Peut-être, aussi, le rôle de thermophore.

Dans les cellules dendritiques, ainsi que Bloch, je n'ai jamais vu des mitoses. Les prolongements de ces cellules sont bien

Fig. 17. — *Nymphe hypertrophiée (19 ans)* (color. au bleu de Nil sulfaté). Infiltration du chorion par les Mastzellen (*m*).

développés, pouvant pénétrer de 2 à 5 rangées de cellules malpighiennes. Ce qui est intéressant, c'est que, contrairement à ce que Bloch a affirmé pour la peau, j'ai souvent vu ces prolongements traverser la membrane de Herxheimer, bien apparente dans mes colorations au Mallory, — et pénétrant dans le derme, s'acheminer vers une cellule pigmentaire, « mélanophore », pour s'anastomoser avec elle. Quelquefois, plusieurs de ces prolongements

convergeaient vers un seul mélanophore, pour s'unir avec lui. J'ai vu aussi de ces prolongements remonter vers l'épithélium après avoir contourné quelques cellules basales (fig. 15).

Les cellules pigmentaires du derme se trouvent surtout dans les

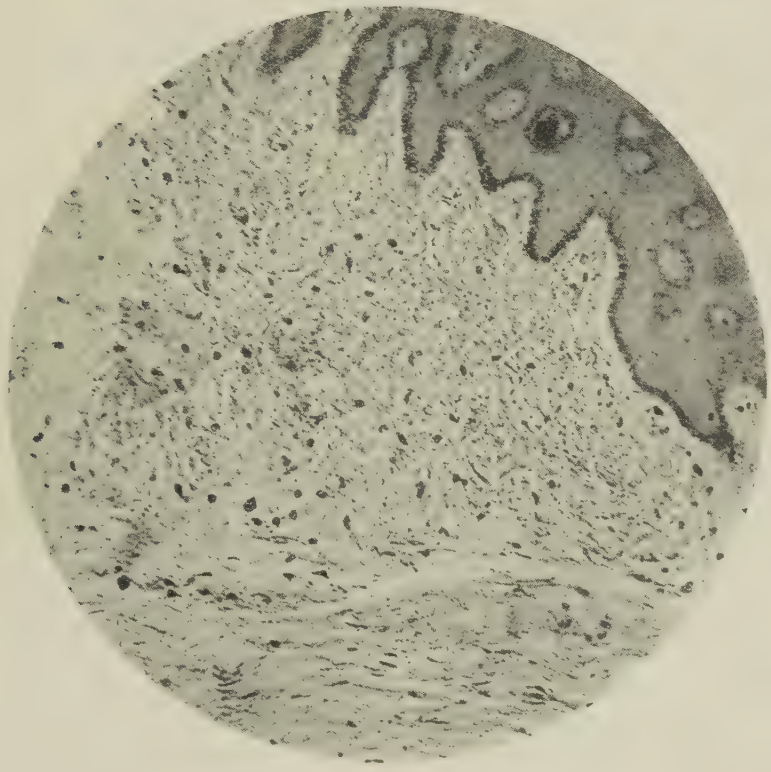


Fig. 18. — *Clitoris hypertrophié (19 ans)* (color. au bleu polychrome d'Unna). Infiltration du chorion par les Mastzellen.

papilles, dans les couches superficielles du derme, plus rarement dans les couches plus profondes. Elles sont isolées, ou en traînées horizontales ou verticales. Le plus souvent, elles sont fusiformes, parfois bien aplaties, plus nombreuses autour des capillaires sanguins, et disposées en chaînes.

C'est grâce à l'imprégnation argentique qu'on voit souvent leurs anastomoses avec les cellules dendritiques de l'épithélium.

Leur pigment, comparé à celui des cellules épithéliales, présente les mêmes différences d'aspect qu'on a relevées dans l'étude de celui de la peau. Les éléments pigmentaires, dans ces mélanophores, sont plus gros ; ils présentent des formes et des dimensions variées.

J'ai encore trouvé du pigment dans des globules blancs, Il y a même du pigment libre dans les interstices conjonctifs. Il n'y a aucun rapport déterminé entre la quantité de pigment contenue dans ces cellules et celle de l'épiderme sus-jacent (fig. 16).

En somme, mes constatations corroborent celles des auteurs, qui ont étudié la peau.

V

SUR L'INFILTRATION DE LA NYMPHE AU « MASTZELLEN » ET SA RELATION AVEC LA MÉTABASOPHILIE DU TISSU CONJONCTIF

La fonction de ces éléments cellulaires, les « mastzellen », pourtant si bien caractérisés, est encore inconnue. Unna et Schumacher ont bien énoncé, en 1925, l'opinion qu'ils seraient les principaux pourvoyeurs du tissu conjonctif en « oxygène actif ». Mais cette hypothèse est loin d'être démontrée.

Dans un autre ordre d'idées, Unna a constaté, à la périphérie de certains cancers, une curieuse modification du tissu conjonctif infiltré de « Mastzellen » : une métachromasie de ce tissu. D'après Unna, la substance fondamentale à réaction acide, des granulations basophiles, métachromatiques, caractéristiques de ces cellules, diffuserait dans le plasma interstitiel et arriverait à imprégner les fibrilles collagènes du voisinage, leur conférant sa réaction acide et sa métachromasie.

Dans trois de nos cas (dix-neuf, vingt-deux et vingt-cinq ans), j'ai constaté une forte infiltration du tissu conjonctif avec ces éléments, surtout dans le premier cas (fig. 17 et 18), où j'ai pu compter jusqu'à 220 exemplaires dans un seul champ microscopique (Reichert, obj. 3, oc. 5). La plupart se trouvaient dans le chorion, autour des vaisseaux, soit isolés, soit en petits groupes de 2 ou 3, ou même formant des traînées. Il y en avait moins, autour des troncules nerveux, ainsi qu'autour des glandes et de leurs conduits excréteurs, où nous notons des lymphocytes abondants.

La forme de ces éléments présente la variabilité connue : elle peut être ronde, ovale, réniforme, triangulaire, avec des prolongements le plus souvent courts et gros. Mais dans certaines régions, où le tissu conjonctif était rigidifié, j'ai trouvé aussi des cellules aplaties ou fusiformes, à prolongements longs et fins qui les faisaient ressembler d'une façon frappante aux Mastzellen trouvés par Maximow dans le mésentère de l'amphibien Amphiuma. Les granulations spécifiques sont très nombreuses, de sorte que souvent elles masquent le noyau complètement. Jamais je n'ai trouvé de pigment dans ces cellules, qui s'offraient pourtant si nombreuses à l'examen. Je note ce fait négatif, parce que quelques observateurs ont vu, dans la peau humaine, de ces cellules contenant quelques granulations de pigment.

Dans 2 cas (vingt et cinquante-six ans), le tissu conjonctif fin présente par places, surtout autour des troncules nerveux au bleu polychrome d'Unna, la même métachromasie que les granulations des Mastzellen. Ce fait est à rapprocher de celui constaté par Unna et que j'ai mentionné. Mais je dois noter que, malgré mes insistantes recherches, je n'ai pu surprendre la dissolution des granulations métabasophiles et la diffusion de leur substance dans le plasma interstitiel. En l'absence de ce premier chaînon d'une démonstration, il reste donc un doute sur la valeur de l'hypothèse d'Unna. Le changement de réaction et la métachromasie du tissu conjonctif pourraient être dus à une autre cause. Il ne faut pas oublier qu'il ne s'agit pas d'une réaction chimique, spécifique. En dehors des granulations des mastzellen, on sait bien qu'il y a encore d'autres substances qui présentent ce phénomène de la métachromasie, par exemple la mucine, ainsi que la substance fondamentale du tissu cartilagineux (1).

BIBLIOGRAPHIE

Eggeling (H.-V.) : « Die Milchdrüse », in *Möllendorff. Mikroskopische Anatomie des Menschen*, III/1.

Hoepke (H.) : « Die Haut », in *Möllendorff*, III/1.

Id. : « Histologische Technik der Haut », in *Jadassohn, Handb. der Haut-u. Geschlechts-Krankheiten*, I/2.

Kehrer (E.) : « Die Vulva und ihre Erkrankungen », in *Veit-Stoeckel, Handb. der Gynäkologie*, V/1.

(1) J'ai obtenu de belles colorations métachromatiques des granulations des mastzellen par le bleu de Nil, employé comme pour la coloration des graisses. La coloration se maintient pendant quelques mois.

Maximow : « Bindegewebe u. blutbildende Gewebe », in *Möllendorff*.
Moraller (F.) et Hoehle (E.) : *Atlas der normalen Histologie der weiblichen Gechlechtsorgane*, 1909.
Pinkus (F.) : « Die Talgdrüse », in *Jadassohn*, I/2.
Schaffer (I.) : « Die Epithelgewebe », in *Möllendorff*, II/1.
Id. : « Die Talgdrüsen », in *Möllendorff*, III/1.
Schröder (R.) : Weibliche Genitalorgane », in *Möllendorff*, III/1.
Tandler (I.) : « Anatomie u. topographische Anatomie der weiblichen Genitalien », in *Veit-Stoeckel*, I/1.
Unna (P.-G.) et Unna (P.) : In *Jadassohn. Färbungs-Methoden* ; in *Jadassohn*, I/2.

ÉTUDE SUR LES ALTÉRATIONS DES CELLULES GANGLIONNAIRES DE LA MOELLE ÉPINIÈRE DANS L'INANITION ET DANS QUELQUES AVITAMINOSES EXPÉRIMENTALES

par

J. NICOLAU

(Travail de l'Institut de Séro-Vaccins « Docteur J. Cantacuzène », Bucarest)

Lorsqu'on examine une section microscopique de la moelle épinière, provenant d'un animal mort par inanition ou par avitaminose, on est frappé par la multiplicité et la gravité des lésions observées dans les grandes cellules ganglionnaires. Cependant, les renseignements que nous avons pu trouver à ce sujet, dans la littérature, sont très sommaires et les données concernant l'anatomo-pathologie des avitaminoses nous paraissent être incomplètes, même dans les travaux et traités les plus récents. Cette lacune pourrait être due, comme l'a justement remarqué Kihn, au fait que, jusqu'à présent, le problème des avitaminoses a préoccupé surtout les physiologistes et les biochimistes, et rarement les anatomo-pathologistes.

Nous avons pensé qu'il serait intéressant de faire une étude d'ensemble sur les altérations des cellules ganglionnaires de la moelle épinière, déterminées non seulement par l'inanition, mais aussi par quelques avitaminoses expérimentales.

Dans ce qui suit, nous ferons un bref historique de la question et exposerons ensuite nos recherches personnelles et les résultats obtenus.

ARCH. ROUM. DE PATHOL. EXPÉR., T. V, N° 3, SEPTEMBRE 1932.

HISTORIQUE

Inanition. — Si l'on fait abstraction des anciens travaux de Schäffer, de Jacobsohn et de ceux, assez anciens déjà, de Manicatide et Müller, on remarque que les altérations du système nerveux dans l'inanition ont été peu étudiées. Dans leur travail sur les lésions du système nerveux dans l'inanition chez les herbivores (cobaye) et les carnivores (chat), Manicatide et Müller notent la disparition des corpuscules de Nissl dans les cellules ganglionnaires de la corne antérieure de la moelle épinière, le déplacement du noyau à la périphérie et le changement de forme des nucléoles qui sont polyédriques au lieu d'être ronds. En outre, le contour des cellules perdrait de sa netteté et les prolongements de certaines cellules paraîtraient détruits ou interrompus.

Plus récemment, Sundwall (1917), examinant des rats blancs en inanition expérimentale, a trouvé que *les cellules de la corne antérieure de la moelle épinière présentaient des noyaux de formes différentes : les uns étaient grands et vésiculeux ; d'autres, au contraire, petits avec la chromatine remplissant tout le noyau. Dans le cytoplasme, on observait la chromatolyse.*

Scorbut. — Dans le scorbut expérimental, presque toutes les recherches sur les altérations du système nerveux se sont limitées à l'étude des nerfs périphériques (Schaumann, Holst et Froelich, etc.)

En ce qui concerne la substance grise de la moelle épinière, on a trouvé *de graves altérations cellulaires de nature aiguë dans tous les groupes cellulaires des cornes antérieures, postérieures et latérales, tandis que les cellules gliales sont modérément prises dans le processus. Çà et là, on rencontre des petites hémorragies relativement récentes. On ne remarque aucune préférence (dans le nombre des cellules atteintes et dans la disposition et la gravité des lésions) pour une région quelconque de la moelle épinière (Kihn).*

Rachitisme. — Dans le rachitisme expérimental, Kihn décrit des lésions assez graves des cellules ganglionnaires du système nerveux caractérisées par : une tuméfaction trouble, de la

liquéfaction, de la sclérose et de la dégénérescence spongieuse et lipoïdique (Kihn). En ce qui concerne le rachitisme humain, il est étonnant que des recherches si nombreuses et si minutieuses aient été faites sur les lésions anatomo-pathologiques des os, alors que, pour les autres organes, on ne possédait que des données peu nombreuses et que, pour les lésions du système nerveux, il n'existait aucune indication (György).

Béri-Béri. — On a prétendu, pendant longtemps, que dans le béri-béri n'existerait aucune lésion du système nerveux central (Miura). Récemment, Wright, Rodenwaldt, Tsunoda et Shimazono ont néanmoins décrit des lésions des cellules ganglionnaires des cornes antérieures de la colonne de Clarke et des ganglions spinaux. Les lésions décrites par Shimazono consistaient en : une tuméfaction du corps cellulaire, un déplacement du noyau à la périphérie, une fonte circonscrite ou diffuse des corpuscules de Nissl. Ces lésions seraient plus accentuées dans la moelle lombaire, moins dans la moelle cervicale et encore moins dans la moelle dorsale. Shimazono note encore un fait très intéressant : les cellules du groupe latéral des cornes antérieures présenteraient des lésions, tandis que les cellules des groupes médians en seraient dépourvues. Kihn trouve des lésions très graves de dégénérescence spongieuse et de vacuolisation dans les cellules ganglionnaires de la moelle épinière.

Pellagre. — Pour la pellagre, le système nerveux a été étudié d'une manière plus complète, mais les recherches concernent presqu'exclusivement la pellagre humaine (Tonnini, Tuczek, Babes et Sion, Parhon et Papinian, etc.). Il est vrai, pourtant, que les syndromes de la pellagre expérimentale obtenus chez le cobaye (Mouriquand), chez le singe (Ed. Francis) ou chez le rat blanc (Goldberger et Lillie), sont encore très discutés et l'on est encore à se demander s'ils peuvent être considérés comme l'équivalent de la pellagre humaine.

Laissant de côté la discussion théorique et revenant aux lésions décrites dans les cellules ganglionnaires de la moelle épinière, notons que M. Koch et C. Voegtlin trouvent, chez les singes soumis à des régimes qui déterminent des syndromes ressemblant à la pellagre, que *certaines cellules des cornes étaient agrandies et pâles, quoique la chromatolyse n'était pas complète; les autres cellules de la substance grise gardent, en grande partie, leur aspect normal.*

Chez le singe, Sundwall trouve que *les cellules de la corne antérieure de la moelle épinière, surtout celles de la région dorsale, présentent des processus rétrogrades, certaines sont pâles, d'autres vacuolées et d'autres ont complètement disparu.*

RECHERCHES PERSONNELLES

Dans nos recherches, nous avons étudié les altérations des cellules ganglionnaires de la moelle épinière.

Nous avons utilisé des cobayes pour l'étude de ces altérations dans l'inanition, le scorbut et la pellagre; des pigeons pour le béri-béri et des rats blancs pour le rachitisme. Les animaux étaient autopsiés immédiatement et nous n'avons conservé pour les recherches que les animaux qui présentaient des signes nets d'avitaminose. Chez ces animaux, la moelle épinière est toujours d'une consistance très molle, presque diffluente; pour éviter de la déchirer, nous avons employé la technique suivante : on enlevait les muscles des gouttières vertébrales, le canal vertébral était ensuite ouvert en sectionnant les lames postérieures des vertèbres et l'on séparait la colonne vertébrale des côtes. Des tronçons de canal vertébral étaient plongés dans du formol à 10 % et de l'alcool à 95°. Vingt-quatre heures après, la moelle épinière avait acquis une consistance suffisante pour être facilement enlevée du canal vertébral et pour être replacée dans du formol ou de l'alcool. Nous avons fait des coupes à la congélation et, après, des inclusions à la paraffine. Les coupes ont été colorées à l'hémalum-éosine B, par le procédé de Nissl et par le procédé d'imprégnation argentique de Bielschowsky. Nous avons préparé et examiné nos coupes en série, reconstituant la cellule ganglionnaire en entier. Sans cette précaution, il peut arriver qu'une coupe présente un aspect que l'on serait obligé d'interpréter comme pathologique (cellule à contour irrégulier, déchiqueté, disparition des corpuscules de Nissl, le noyau excentrique, etc., etc.), cet aspect disparaissant dans les coupes qui suivent immédiatement.

Une dernière remarque : chez le cobaye, même le plus normal de l'élevage, on peut trouver des cellules ganglionnaires présentant la disparition des corpuscules de Nissl et un aspect

plus ou moins hyperchromatique. Mais comme il est naturel, la présence de ces cellules anormales est très rare.

INANITION. — Nous avons effectué nos recherches sur deux lots de cinq cobayes chacun. Le poids des cobayes en expérience variait entre 350 à 400 grammes.

Les cobayes du premier lot ont été maintenus en état d'inanition totale sans recevoir d'eau. Ils sont morts entre le cinquième et le huitième jour. Les cobayes du second lot ont été maintenus également en état d'inanition totale, mais on leur a donné de l'eau. Ils sont morts entre le cinquième et le dixième jour. Deux cobayes de chaque lot ont été sacrifiés pendant le stade convulsif qui précède habituellement le coma final et la mort.

Aucune différence n'étant observée dans le tableau histologique des cobayes des deux lots, nous ne donnerons qu'une seule description.

EXAMEN MICROSCOPIQUE. — Les cellules ganglionnaires sont très agrandies, tuméfiées, arrondies. La majorité des cellules conservent leur contour ; chez d'autres, il a complètement disparu; la cellule prend alors une forme irrégulière, déchiquetée. Les corpuscules de Nissl ont entièrement disparu dans le plus grand nombre des cellules. Le protoplasme prend un aspect homogène, opaque et se colore métachromatiquement ou parfois (coloration Nissl) prend une couleur bleu cendré sale. Des vacuoles apparaissent aussi dans le protoplasme, qui présente alors un aspect spongieux. Le noyau de la cellule ganglionnaire est souvent déplacé vers la périphérie, le dessin chromatique est renforcé et l'aspect total légèrement hyperchromatique. Le nucléole, habituellement conservé, se trouve à la périphérie du noyau, ou bien il est expulsé dans le corps protoplasmatique. Les globules polaires sont quelquefois disposés en couronne à la périphérie. Le cristalloïde a disparu.

Dans un stade plus avancé des lésions, on remarque deux phénomènes :

la cellule peut pâlir de plus en plus; en même temps, le noyau fond et disparaît et il ne reste que des fragments de protoplasme irréguliers, déchiquetés, qui à leur tour disparaissent très peu après ;

ou bien, — ce qui arrive plus rarement, — la cellule diminue de volume, se colore (coloration Nissl) intensément en bleu foncé opaque, tandis que le noyau devient très hyperchromatique. La

cellule commence à se fragmenter jusqu'à ce qu'il n'en reste qu'une tache nucléaire qui s'émiette, elle aussi, en fragments de plus en plus petits, dont on ne peut plus suivre le sort ultérieur.

L'appareil neuro-fibrillaire est gravement atteint : les fibrilles se segmentent, se transforment en granules de formes et grandeurs variables, et disparaissent petit à petit.

Dans l'inanition, toutes les cellules ganglionnaires de la moelle épinière présentent, dans leur ensemble, les lésions décrites. Il n'existe aucune région ni aucun groupe de cellules qui ne soient plus ou moins altérés, et l'on ne rencontre qu'exceptionnellement une cellule intacte.

***

Scorbut. — Deux lots de 20 cobayes chacun ont été mis au régime :

1° Ceux du premier lot ont été mis au régime de Mouriquand, modifié : orge + foin + 60 grammes de lait stérilisé pendant une heure à 120° C, à l'autoclave.

2° Ceux du deuxième lot ont été mis au régime de Cohen et Mendel (qui nous a semblé provoquer le scorbut d'une façon plus constante) : farine de soya avec 3 % de chlorure de sodium et de lactate acide de calcium, levure de bière sèche et lait stérilisé.

Le poids des cobayes mis au régime variait entre 250 et 300 grammes. A ce régime, un nombre assez grand d'animaux mourait pendant les dix premiers jours. Chez les survivants apparaissaient successivement les phénomènes scorbutiques à peu près dans l'ordre suivant : dans les quinze à vingt premiers jours, sensibilité exagérée des articulations à la pression et, bientôt après, tuméfaction de ces mêmes articulations. Le syndrome scorbutique se complète, généralement, entre les vingt-cinquième et trentième jours.

De ces lots d'animaux, certains ont été sacrifiés entre les quinzième et vingtième jours; d'autres après vingt-cinq à trente jours, et les restants après trente à trente-cinq jours.

Nous avons pratiqué la nécropsie immédiate et complète de chaque cobaye, et nous n'avons conservé pour les recherches que les animaux qui présentaient des lésions articulaires typiques avec, généralement, de grandes suffusions sanguines péri-articulaires.

La moelle épinière était enlevée, fixée et colorée d'après les procédés indiqués.

Des coupes furent pratiquées sur un nombre total de 16 cobayes, dont :

a) 3 ont été sacrifiés entre quinze à vingt jours ;

b) 9 ont été sacrifiés entre vingt-cinq à trente jours ;

c) 4 ont été sacrifiés après trente jours.

Examen microscopique. — a) *Animaux sacrifiés après quinze à vingt jours de régime.* — Nombreuses cellules ganglionnaires atteintes avec disparition des corpuscules de Nissl autour du noyau, formation de plis dans la membrane nucléaire, le noyau étant légèrement hyperchromatique, à dessin chromatique renforcé. Aspect normal de l'appareil neuro-fibrillaire. On rencontre ces lésions dans toute l'étendue de la moelle épinière; mais, dans la région dorsale, les cellules altérées sont infiniment plus nombreuses et plus fortement atteintes. Les lésions affectent seulement les cellules ganglionnaires des cornes antérieures dans le groupe antéro-interne et antéro-externe. Très peu de cellules du groupe latéral sont touchées.

b) *Animaux sacrifiés après vingt-cinq à trente jours de régime.* — Dans ce cas, les lésions sont plus graves et la plupart des cellules ganglionnaires sont atteintes. Les phénomènes prédominants sont ceux de tuméfaction aiguë. Les cellules sont gonflées, arrondies, ballonnées, certaines ont un contour irrégulier, déchiqueté. Les corpuscules de Nissl ont, en majeure partie, disparu; le protoplasme prend un aspect homogène, pâle, hyalin, se colore en rose très clair avec l'hémalun-éosine, et en une nuance très pâle de bleu faiblement verdâtre par la coloration de Nissl. Le noyau, généralement déplacé vers la périphérie, a un contour souvent irrégulier. La membrane nucléaire présente des plis plus ou moins profonds ; plus rarement, elle a complètement disparu. L'aspect du noyau est : soit gonflé, vésiculeux, pâle avec de rares filaments de chromatine ; soit, plus rarement, hyperchromatique, le réseau de chromatine étant transformé en un dépôt dense, fin, pulvérulent. Le nucléole, le plus souvent déplacé vers la périphérie du noyau, prend ici et là un aspect mûriforme.

L'appareil neuro-fibrillaire présente de graves altérations : les neuro-fibrilles sont segmentées et transformées en granules irréguliers. Plus rarement, les neuro-fibrilles, disparues de la cellule,

ne se rencontrent plus que dans les prolongements où elles sont encore segmentées.

Dans ce groupe d'animaux, nous notons aussi que les cellules du groupe antéro-interne et antéro-externe des cornes antérieures présentent des lésions, tandis que celles du groupe latéral sont infiniment moins atteintes par le processus (au point de vue du nombre des cellules touchées et de la gravité des lésions). En même temps, on constate que ce sont toujours les cellules ganglionnaires de la région dorsale qui sont les plus fortement atteintes.

c) *Animaux sacrifiés après trente jours de régime.* — Les lésions sont, dans ce cas, plus généralisées et accentuées. Le protoplasme des cellules devient d'abord plus pâle, d'aspect de plus en plus hyalin, de contour irrégulier. Les cellules se colorent de plus en plus faiblement, jusqu'à disparition complète. A leur place, on trouve alors des nids de cellules gliales.

Dans le noyau, les lésions sont variables : parfois le noyau est déplacé vers la périphérie et expulsé, d'autres fois celui-ci devient globuleux, le dessin chromatique est de plus en plus effacé, la membrane disparaît et la masse nucléaire se fond dans le protoplasme environnant. Enfin, d'autres fois, le noyau subit un processus de ratatinement, le réseau chromatique se colore plus intensément et se groupe en une masse pulvérulente, à très petits grains, mais très serrée. D'autres fois encore, le noyau prend l'aspect opaque d'une tache d'encre où l'on ne distingue plus ni la structure chromatique ni même le nucléole. En ce qui concerne le nucléole, la première manifestation pathologique observable est la disparition du cristalloïde. Celui-ci change ensuite de place passant à la périphérie du noyau, d'où il est, assez souvent, expulsé. On remarque fréquemment dans le nucléole une disposition en croix des globes polaires. Cette disposition ne constitue cependant pas une lésion; on la retrouve aussi chez les animaux normaux et elle est due, très probablement, à l'action des solutions employées comme fixateurs. Une autre disposition qui ne se rencontre que dans les cellules présentant aussi d'autres lésions, et que nous considérons comme pathologique, est celle des globes polaires disposés en couronne à la périphérie du nucléole.

L'appareil neuro-fibrillaire est complètement fragmenté. On le trouve encore çà et là, sous forme de granules ou de filaments épaissis, irréguliers, de plus en plus rares jusqu'à disparition complète.

Un autre aspect d'altération cellulaire que l'on trouve rarement dans le lot précédent, mais qui devient assez fréquent dans celui-ci, est le suivant : la cellule est ratatinée, son contour est anguleux, présente des angles très aigus, la base étant généralement concave. Les corpuscules de Nissl ont complètement disparu, le protoplasme se colore intensément. De nombreuses cellules présentent la coloration des voies incolorables (Spielmann), et dans ce cas, le protoplasme prend un aspect fibrillaire (coloration de Nissl). Le noyau, situé généralement sur l'un des côtés de la cellule, est si intensément coloré que l'on ne distingue même plus le nucléole.

En ce qui concerne l'appareil neuro-fibrillaire de ces cellules, son examen est difficile à faire, car les cellules s'imprègnent généralement si fortement, qu'aucun détail de structure n'apparaît plus.

Il convient de remarquer ici aussi que les cellules atteintes sont, en énorme majorité, celles des groupes antéro-interne et antéro-externe, les cellules du groupe latéral ne l'étant pas ou presque pas, et qu'on les rencontre surtout dans la région dorsale de la moelle épinière.

*
**

Rachitisme. — Deux lots comprenant chacun 10 rats blancs ont été soumis :

Le premier lot au régime de Mc. Collum, Simonds, Shipley et Park, n° 3143 ;

Le second lot au régime, bien connu, n° 84, de Sherman et Pappenheimer.

Nous n'avons observé aucune différence entre les deux lots, car les signes de rachitisme apparaissaient dans l'intervalle classique de trente à quarante jours. Les animaux furent sacrifiés pendant cette période. La nécropsie de chaque rat a été complétée par des examens histologiques des os, et nous n'avons conservé pour nos recherches que les animaux présentant des signes certains de rachitisme. Nos recherches ont été faites sur un nombre de 6 animaux, les autres ayant succombé avant trente jours ou n'ayant pas présenté de signes nets de rachitisme expérimental.

La moelle épinière a été fixée et colorée d'après les procédés déjà indiqués.

Examen microscopique. — Les lésions des cellules ganglionnaires de la moelle épinière dans le rachitisme expérimental ressemblent presque exactement à celles du scorbut expérimental. C'est pourquoi nous n'en ferons qu'une description sommaire. Les lésions que l'on rencontre dans la grande majorité des cellules sont celles de tuméfaction aiguë présentant des cellules agrandies, à contour arrondi ou irrégulièrement rond, avec disparition des corpuscules de Nissl et ayant l'aspect homogène, hyalin, du protoplasme. En ce qui concerne les lésions nucléaires : dans beaucoup de cellules, le noyau est déplacé à la périphérie ; la membrane nucléaire présente des plis, ou peut même avoir disparu; l'aspect général du noyau est soit gonflé, vésiculeux et pâle, soit hyperchromatique. Le nucléole, dans beaucoup de cellules, est déplacé, lui aussi, vers la périphérie du noyau ou expulsé dans le protoplasme. Il prend parfois l'aspect mûriforme. L'appareil neuro-fibrillaire présente les caractères suivants : segmentation des neuro-fibrilles, transformation granulaire, fonte et disparition des granules. On rencontre aussi, mais bien plus rarement, des cellules ratatinées, à contour anguleux, avec disparition des corpuscules de Nissl, d'aspect hyperchromatique, fibrillaire, du protoplasme, le noyau étant très hyperchromatique.

Comme dans le scorbut, les altérations se limitent à la région dorsale de la moelle épinière et aux groupes cellulaires antéro-interne et antéro-externe.

*
* *

Béri-béri. — Un nombre de 20 pigeons fut soumis au régime de riz décortiqué. Beaucoup d'animaux sont morts sous ce régime, dans les premiers dix jours. Les survivants ont été sacrifiés dès qu'ont apparu le stade d'excitation motrice avec spasme et la crampe de la nuque; certains ont été sacrifiés pendant le stade paralytique.

Nous avons examiné 4 pigeons.

Les inclusions, sections et colorations, ont été faites suivant la technique ci-dessus.

Examen microscopique. — La lésion qui prédomine ici dans les cellules ganglionnaires est différente de celle qui est produite par le scorbut et le rachitisme. La cellule ganglionnaire paraît également agrandie, et ses angles arrondis ; mais elle présente

un contour plus irrégulier, parfois nettement déchiqueté. Les corpuscules de Nissl ont disparu; cependant, le protoplasme n'a plus l'aspect homogène et pâle, mais il est granulaire, formé de grains fins, de formes irrégulières, de dimensions inégales. Plus rarement, le protoplasme prend un aspect légèrement fibrillaire ou bien un aspect homogène très hyperchromatique. Les lésions nucléaires sont également différentes : d'abord, dans la grande majorité des cellules lésées, le noyau présente une forme allongée, ovalaire ; il est, ici aussi, déplacé vers la périphérie; la membrane nucléaire paraît subsister encore, mais l'aspect est tellement hyperchromatique que, dans bien des cellules, on ne distingue même plus le nucléole.

Dans un stade plus avancé, ou bien le noyau est expulsé et le protoplasme s'émiette en fragments de plus en plus petits, ou bien le noyau reste en place. Mais, dans le protoplasme, apparaissent, d'une part, des vacuoles; d'autre part, des granules et, par ce double processus, le protoplasme fond et disparaît.

Le noyau, à son tour, s'émiette aussi petit à petit et, finalement, il ne subsiste de la cellule que des vagues restes de protoplasme à peine visibles, à contour très irrégulier et présentant à l'intérieur des traces de noyau.

Cette lésion est la plus fréquente, mais on peut rencontrer, beaucoup plus rarement, des cellules présentant des signes de tuméfaction aiguë. Nous ne reviendrons plus sur cette description.

L'appareil neuro-fibrillaire présente — lorsqu'on peut le mettre en évidence — les altérations déjà décrites.

On trouve des lésions comparables dans tous les groupes cellulaires et dans toute l'étendue de la moelle.

*
**

Pellagre. — 20 cobayes ont été soumis au régime de Mouriquand : farine de maïs + 5 centimètres cubes de jus de citron. A ce régime, un grand nombre d'animaux meurent d'inanition après un intervalle plus ou moins long (généralement entre dix à vingt jours), à cause d'une anorexie absolue. D'autres animaux meurent un peu plus tard, dans un état de consomption générale très accentuée. Enfin, un très petit nombre de survivants font, généralement après quarante-cinq à soixante jours de régime, une cachexie extrêmement accentuée avec un syndrome d'épilation, surtout manifeste sur l'abdomen.

Nos recherches furent effectuées sur 3 cobayes qui ont survécu à ce régime et qui présentaient le syndrome d'épilation. Les cobayes ont été sacrifiés.

Coupes et colorations de la moelle épinière comme plus haut.

Examen microscopique. — La lésion la plus fréquemment rencontrée dans les cellules ganglionnaires de la moelle épinière, chez ces animaux, ressemble beaucoup à celle décrite à propos du béri-béri. Les cellules présentent un contour irrégulier, anguleux, mais généralement bien délimité; plus rarement, le contour est déchiqueté. Les corpuscules de Nissl ont disparu. Le protoplasme, d'aspect hyperchromatique, parfois grenu, contient des grains de forme et dimensions variables, qui prennent le colorant avec des intensités différentes et sont inégalement répandus dans la masse protoplasmique. Il arrive que le protoplasme prenne un aspect filamenteux et il peut avoir enfin l'aspect homogène très hyperchromatique. Ici, également, le noyau présente en général une forme ovalaire; il est fréquemment déplacé vers l'un des bords de la cellule. Il est, le plus souvent, tellement hyperchromatique que toute structure a disparu.

Dans un stade plus avancé, la cellule disparaît, soit par le fait que le protoplasme se résout en lambeaux de plus en plus petits et déchiquetés, soit par le fait que, dans la masse protoplasmique, apparaît d'abord un léger état vacuolaire qui s'accentue et fait fondre lentement la cellule.

On rencontre très rarement chez ces animaux des cellules ganglionnaires présentant l'aspect de tuméfaction aiguë.

Un phénomène que nous avons observé assez fréquemment et, comme il nous a semblé, surtout chez ces animaux, est le suivant: on voit un rassemblement de cellules gliales qui se disposent autour des cellules ganglionnaires altérées en voie de disparition. Quand la cellule a disparu, sa place est occupée par ces cellules gliales. Ce phénomène ressemble beaucoup à celui qui a été décrit par Marinesco et est très connu sous le nom de neuronophagie.

Ici, aussi, nous notons des altérations déjà décrites dans l'appareil neuro-fibrillaire.

En ce qui concerne le siège topographique des cellules lésées, il s'étend, comme dans l'inanition, à toute la moelle épinière et à tous les groupes cellulaires : groupes antéro-interne, antéro-externe, latéral, etc.

En résumé les lésions décrites ci-dessus peuvent se réduire à 3 principaux types (classification de Spielmayer) :

a) Lésions de tuméfaction aiguë ;

b) Lésions de ratatinement et sclérose consécutive ;

c) Lésions de liquéfaction avec destruction granulaire, beaucoup plus rarement rencontrées et surtout accentuées dans l'inanition.

Ces trois types de lésions se rencontrent dans les cas d'inanition, aussi bien que dans les avitaminoses étudiées.

Les régimes auxquels nous soumettons les animaux sont déficients non seulement en ce qui concerne les vitamines respectives, mais sont, en majorité, déficients dans la composition quantitative et qualitative d'albumines, de graisses et d'hydrocarbures, et évidemment déficients aussi en ce qui concerne les acides aminés et les sels minéraux indispensables. Il est donc à supposer que ces lésions ne sont pas strictement déterminées par la carence vitaminique respective à chacun de ces cas, mais aussi par l'état d'inanition.

Nous nous sommes efforcés de réduire au minimum l'influence de l'inanition et, pour le scorbut au moins, nous croyons y être parvenus dans la mesure du possible. Cette influence est moins réduite chez les animaux soumis au régime du rachitisme, et ne l'est en aucune façon chez ceux qui sont soumis au régime du béri-béri et de la pellagre.

Mais même avec un régime idéal, le plus strictement et spécifiquement déficient, on ne peut écarter complètement l'influence de l'inanition, car chez tous les animaux, chez les uns plus tôt, chez les autres plus tard, s'installe une anorexie extrêmement accentuée et invincible. Si cette anorexie peut encore être facilement combattue chez les pigeons par le gavage, elle est très difficile à combattre chez les cobayes et presque impossible chez les rats blancs. Il est donc certain que, dans de pareilles expériences, on ne peut pas éliminer complètement le facteur inanition, non plus que les effets que ce facteur peut produire dans la détermination des lésions des cellules ganglionnaires.

En ce qui concerne les animaux soumis au régime farine de maïs + jus de citron, nous sommes loin de croire que nous avons réalisé un syndrome identique à la pellagre. Le syndrome d'épilation peut être obtenu par des carences très variables ; par

carence des amino-acides (Willcok et Hopkins, Osborne et Mendet, etc.); par carence des sels minéraux (Mc Collum et ses collaborateurs, etc.). Mais en définitive, il ne nous semble pas que l'on doive considérer un syndrome d'épilation obtenu chez un animal sous l'influence d'un régime dans lequel on combine — comme dans la pellagre humaine — un régime maïdique avec une double carence d'acides aminés et de substances minérales, comme étant trop éloigné du syndrome pellagreux de l'homme.

***

Existe-t-il des lésions spécifiques des cellules ganglionnaires de la moelle épinière pour les différentes avitaminoses ? Nous ne le croyons pas.

Les lésions observées par nous ont été trouvées et décrites par différents auteurs, dans diverses infections et intoxications. Elles ont été obtenues aussi (lésions de tuméfaction aiguë et de liquéfaction) par voie expérimentale, par exemple chez les animaux surchauffés.

Mais s'il n'existe pas de lésion spécifique, il existe pourtant des différences entre les diverses avitaminoses. C'est ainsi, par exemple, que la lésion observée le plus fréquemment dans l'inanition, le scorbut et le rachitisme expérimental, c'est la tuméfaction aiguë. Le ratatinement et la sclérose s'y rencontrent rarement et même très rarement. Au contraire, dans le béri-béri et la pellagre, la lésion observée le plus souvent, c'est le ratatinement et la sclérose, tandis que la tuméfaction aiguë se rencontre beaucoup plus rarement.

Le liquéfaction s'observe presque exclusivement dans l'inanition.

La destruction granulaire se rencontre chez tous les animaux comme dernier terme de la désagrégation cellulaire. Il est difficile d'expliquer pourquoi telle lésion prédomine dans telle avitaminose, et telle autre lésion étant la caractéristique essentielle de telle autre avitaminose.

Une explication qui pourtant nous semble acceptable serait la suivante : la tuméfaction aiguë s'installe sous l'action d'un agent doué d'un pouvoir nocif assez puissant, qui agit intensément dans une période de temps plutôt courte. Omokorow obtient des lésions de tuméfaction aiguë dans les cellules ganglionnaires chez des animaux surchauffés. Les mêmes altérations

s'obtiennent dans les intoxications massives et les infections brutales à germes très virulents. Le ratatinement et la sclérose, par contre, s'obtiennent le plus souvent sous l'influence d'agents possédant un moindre pouvoir nocif, mais qui exercent leur action en un intervalle de temps plus long. Le ratatinement et la sclérose sont des lésions qu'on trouve le plus souvent dans les maladies et les infections chroniques, ainsi que dans les intoxications chroniques.

Dans l'inanition, où il s'agit d'une action nocive très brutale et très prompte, la lésion que l'on rencontre presque exclusivement chez les animaux sacrifiés, après quarante-huit heures de régime, est la tuméfaction aiguë, et il est tout à fait exceptionnel de trouver une cellule ratatinée. Chez les animaux sacrifiés plus tard (trois à huit jours), le nombre des cellules ratatinées augmente progressivement.

L'interprétation que nous proposons est certainement plus discutable dans les cas de scorbut et de rachitisme. Les phénomènes caractéristiques du scorbut commencent après quinze à vingt jours; ceux du rachitisme à peine après trente jours. Pourtant, ici aussi, nous avons pu constater que les lésions de tuméfaction aiguë prédominent chez les animaux sacrifiés plus tôt, tandis que le taux de cellules ratatinées augmente à mesure que l'animal a été sacrifié plus tard.

Dans la pellagre, la lésion prédominante est le ratatinement et la sclérose, car ici le syndrome ne s'installe qu'après un assez long intervalle de quarante-cinq à soixante jours.

En ce qui concerne le béri-béri qui présente aussi, comme lésion prédominante, un aspect semblable au ratatinement, nous croyons qu'il faut tenir compte de certaines particularités de structure histologique que présentent les cellules ganglionnaires. Chez les pigeons normaux, ces cellules ont un contour plus arrondi, les corpuscules de Nissl sont généralement plus grands et plus denses, la chromatine nucléaire a un réseau plus serré, de sorte que l'aspect normal de ces cellules est un peu hyperchromatique. Il se pourrait que ces différences de structure normale soient en rapport avec les différences pathologiques que l'on observe dans ce cas.

Un dernier point, sur lequel nous voulons encore insister, est la distribution topographique des cellules lésées.

Nous avons vu, d'après les descriptions faites dans l'inanition, le béri-béri et la pellagre, que toutes les cellules, dans toute l'étendue de la moelle épinière, sont lésées de la même manière

quant à la fréquence et au degré d'intensité des lésions. Il n'en est pas de même pour le scorbut et le rachitisme. Ici, nous trouvons une nette sélectivité topographique des lésions, car la région de la moelle la plus atteinte est la région de la moelle dorsale. Ce fait a été noté également par d'autres auteurs (Sundwall); mais ce qui n'a pas été encore signalé, c'est que, dans ces deux avitaminoses, la sélectivité topographique est encore plus stricte. Les cellules ganglionnaires les plus atteintes comme nombre, mais aussi comme gravité de lésions, appartiennent au groupe cellulaire médian antéro-interne ; moins atteintes sont les cellules du groupe antéro-externe, et pas du tout ou presque, celles du groupe latéral.

CONCLUSIONS

1° Les cobayes soumis à un régime d'inanition totale présentent de graves altérations des cellules ganglionnaires de la moelle épinière. Après quarante-huit heures de régime, ces lésions sont déjà assez accentuées.

Parmi ces lésions, les plus fréquemment rencontrées consistent en une tuméfaction aiguë et, beaucoup plus rarement, en une liquéfaction et destruction granulaire.

L'appareil neuro-fibrillaire présente également de très graves altérations caractérisées par la segmentation des fibrilles, leur transformation granulaire et la destruction totale des neurofibrilles.

On trouve ces cellules altérées dans tous les groupes cellulaires des cornes antérieures et sur toute l'étendue de la moelle épinière.

2° Chez les cobayes soumis au régime de scorbut, nous trouvons de même des altérations graves des cellules ganglionnaires de la moelle épinière.

Ces altérations consistent en une tuméfaction aiguë des cellules, comme lésion prédominante, et beaucoup plus rarement en un ratatinement.

L'appareil neuro-fibrillaire présente les altérations déjà décrites.

Les cellules altérées se rencontrent surtout dans la région dorsale de la moelle épinière, dans le groupe cellulaire antéro-interne et beaucoup moins dans le groupe antéro-externe.

3° Les rats blancs, soumis au régime rachitigène, présentent

des altérations des cellules ganglionnaires qui ressemblent, à tous les points de vue, aux lésions rencontrées chez les cobayes soumis à un régime scorbutigène.

4° Chez les pigeons soumis au régime décortiqué, la lésion prédominante se rapproche beaucoup plus du ratatinement ; les lésions de tuméfaction aiguë se rencontrent plus rarement.

Dans l'appareil neuro-fibrillaire, on trouve les lésions déjà décrites.

En ce qui concerne la topographie des cellules lésées, elles se trouvent dans toute l'étendue de la moelle épinière.

5° Chez les cobayes soumis à un régime maïdique + jus de citron, la lésion prédominante dans les cellules ganglionnaires de la moelle épinière est le ratatinement et la sclérose. On rencontre, plus rarement, la tuméfaction aiguë.

L'appareil neuro-fibrillaire présente ici aussi les lésions décrites.

Il n'existe aucune prédilection dans la distribution des lésions pour un groupe cellulaire quelconque ou pour une région donnée de la moelle épinière.

BIBLIOGRAPHIE

Aschoff et Koch : *Der Skorbut*. Jena, G. Fischer, 1919.

Babes et Sion : In *Nothnagel's Spec. Path. und Therap.*, Wien, 1901.

Eddy (Walter-H.) : *The Vitamine Manual*. Baltimore, Williams and Wilkins Comp., 1921.

Frank (C.) : *Die Vitamine*. München, J.-F. Bergmann, 1924.

Goldberger (J.) et Lilie (R.-D.) : « A note on an experimental pellagralike condition in the albino rat. » (*U. S. Public Health Service*, 28 mai 1926, pp. 1025-1029.)

Jakobsohn : « Ueber das Aussehen der motorischen Zellen im Vorderhorn des Rückenmarkes nach Ruhe und Hunger. » (*Neurol. Centralbl.*, n° 20, 1897, p. 946.)

Kollath (W.) : « Zur Pathogenese der Avitaminosen. » (*Kl. Woch.*, n° 40, 1931, pp. 1841-1847.)

Lavinder (C.-H.) : « Pellagra » (in Stepp et György : *Die Avitaminosen u. verwandte Krankheitszustände*, etc., etc.).

Marek (J.) et Wellmann (O.) : *Die Rachitis in ihren ätiologischen, biochemischen, pathogenetischen, pathologisch-anatomischen und klinischen Beziehungen. Eine experimentelle und vergleichende Studie*. Jena, Gustav Fischer, 1931.

Muller (E.) et Manicatide : « Experimentelle Untersuchungen über Nervenzellen-veränderungen nach Säureintoxication und Inanition. » (*Jahrbuch f. Kinderheilk.*, N. F. XLVIII, 1898, pp. 377-384.)

Randoin (L.) et Simonet (H.) : *Les données et les inconnues du problème alimentaire. La question des vitamines*. Paris, Les Presses universitaires de France, 1927.

..... : « Report on the present state of Knowledge of accessory food factors. » (*Medical Research Council*, 2e édit., London ; in *His Majestys Stationery Office*, 1924.)

Rodenwald : « Pathologisch-anatomische Verhältnisse des Nervensystems bei Béri-Béri. » (*Münch. med. Woch.*, 23, 1908.)

Schaffer : « Ueber Nervenzellenveränderungen während der Inanition. » (*Neurol. Centralbl.*, n° 18, 1897, p. 832.)

Shimazono (J.) : « Ueber die Veränderungen des Rückenmarkes und der Medulla oblongata bei Beriberi. » (*Mitt. a. d. med. Fak. D. Kais.*, Univ. Tokio, H. 2, 1910.)

Id. : « Beriberi » (*in* Stepp et György : *Die Avitaminose u. verwandte Krankheitszustände*, etc., etc.).

Spielmeyer (W.) : *Histopathologie des Nervensystems*, vol. I. Berlin, Springer, 1922.

Steep (W.) et György (P.) : « Avitaminosen und verwandte Krankheitszustände », in *Enzyklopedie der klinischen Medizin*. Berlin, J. Springer, 1927.

Sundwall (J.) : « Tissue alteration in malnutrition and pellagra. » (*U. S. Public Health Service, Hygienic Laboratory*, bull. n° 106, 1917, pp. 1-80.)

Tsunoda : « Ueber die Veränderungen des Nervensytems bei der Kakkekrankheit in Japan. » (*Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat.*, 20, 1909, p. 337.)

Tuczek (F.) : *Klin. Anat. Studien über Pellagra,* 1893.

Voegtlin (C.), Neill (M.-H.) et Andrew (Hunter) : « The influence of vitamines on the course of pellagra. » (*U. S. Public Health Service, Hygienic Laboratory,* bull. n° 116, 1920, pp. 7-34.)

Winkler (C.) : *Manuel de neurologie. Anatomie du système nerveux.* Harlem, De Erven et F. Bohn, 1918.

Wright (H.) : « Changes in the neuronal centres in beriberi neuritis. » (*Brit. med. Journ.,* 1901, p. 1601.)

Planche I

Inanition.

Coupes dans la moelle épinière des cobayes mis au régime d'inanition totale.

I. En *a, a,* on voit des grandes cellules ganglionnaires de la corne antérieure de la moelle épinière plus ou moins arrondies, présentant la disparition des corpuscules de Nissl et l'hyperchromatose du noyau.

En *b, b,* on voit des lambeaux déchiquetés de protoplasme qui présente des vacuoles.

II, III, IV. Représentent des processus de plus en plus accentués de désintégration cellulaire par destruction granulaire et fonte cellulaire.

V. Processus de liquéfaction avec désintégration pulvérulente du noyau.

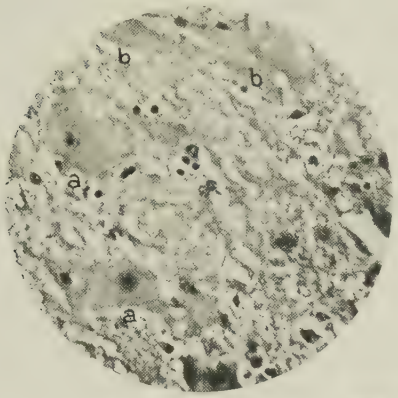


FIG. I.

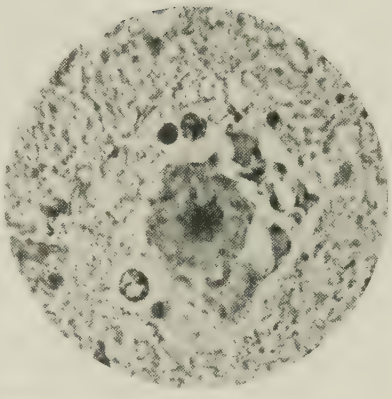


FIG. II.

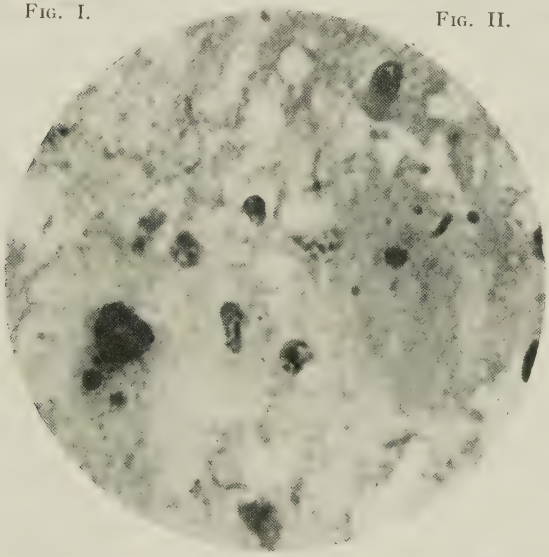


FIG. III.

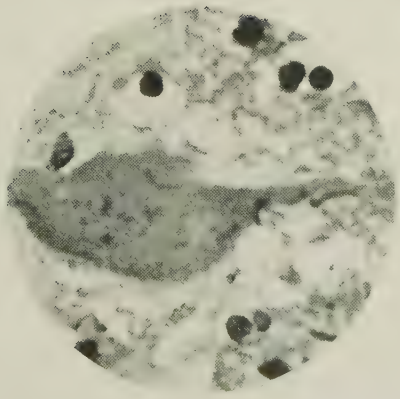


FIG. IV.

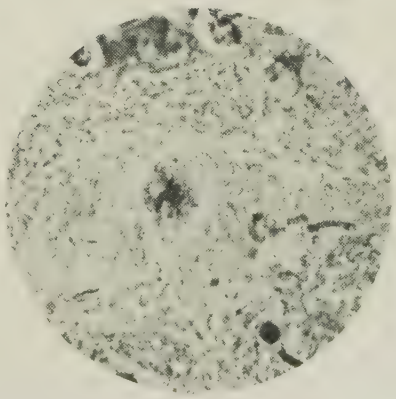


FIG. V.

MASSON ET C^ie^, ÉDITEURS

Planche II

Scorbut expérimental.

Coupes dans la moelle épinière des cobayes mis au régime scorbutigène.

I, II. En *a*, *a*, cellules ganglionnaires présentant la tuméfaction trouble.

En *b*, *b*, cellules ratatinées.

III, IV. En *a*, *a*, cellules ganglionnaires ratatinées, d'aspect hyperchromatique.

V, VI. En *a*, *a*, cellules ganglionnaires de formes irrégulières, déchiquetées, avec les noyaux hyperchromatiques dont quelques-uns sont déplacés à la périphérie. On remarque, sur la coupe, la traînée des vaisseaux sanguins très hyperhémiés.

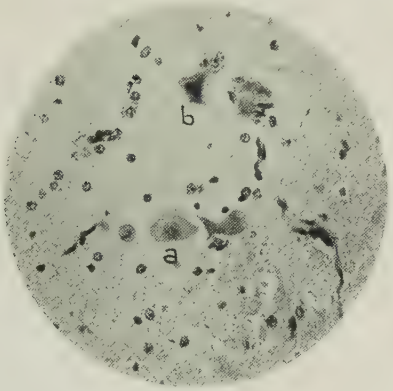


FIG. I.

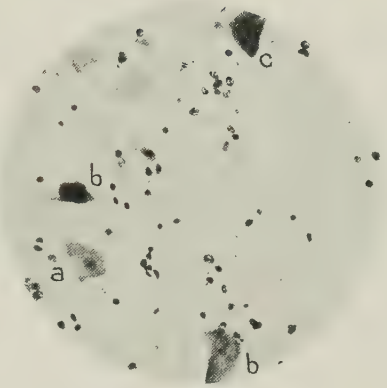


FIG. II.

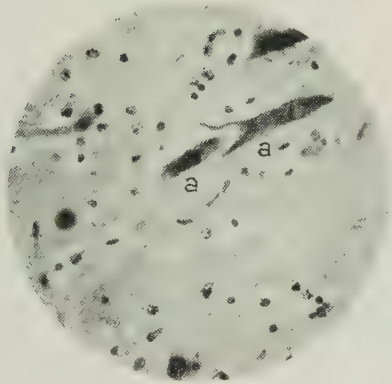


FIG. III.

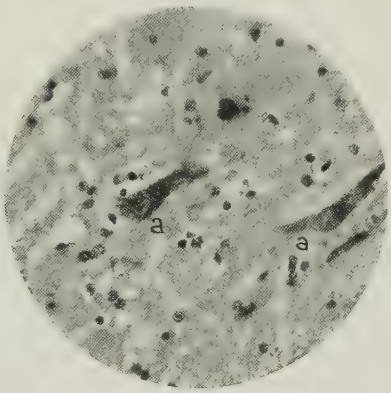


FIG. IV.

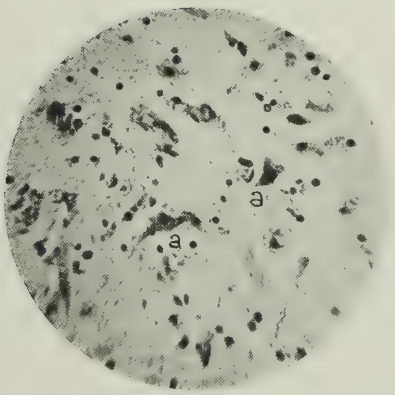


FIG. V.

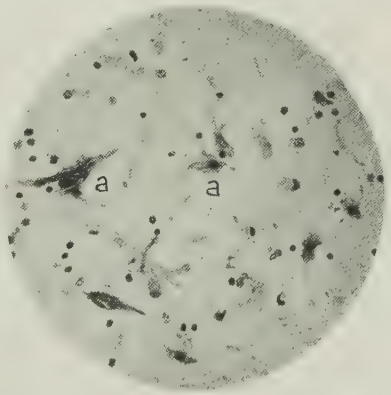


FIG. VI.

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

Planche III

Scorbut expérimental.

Coupes dans la moelle épinière des cobayes mis au régime scorbutigène.

I. En *a*, *b*, cellule ganglionnaire présentant la tuméfaction trouble avec le contour arrondi, la disparition des corpuscules de Nissl, l'aspect pâle, homogène, hyalin de la cellule et le noyau déplacé à la périphérie.

En *c*, cellule qui a perdu son noyau.

II. En *a*, on remarque le noyau hyperchromatique.

En *b*, le noyau est légèrement hyperchromatique, déplacé, et il a expulsé son nucléole qu'on voit à la gauche du noyau.

III. En *a*, *a*, différents aspects de tuméfaction trouble.

ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
TOME V. — N° 3. — 1932.

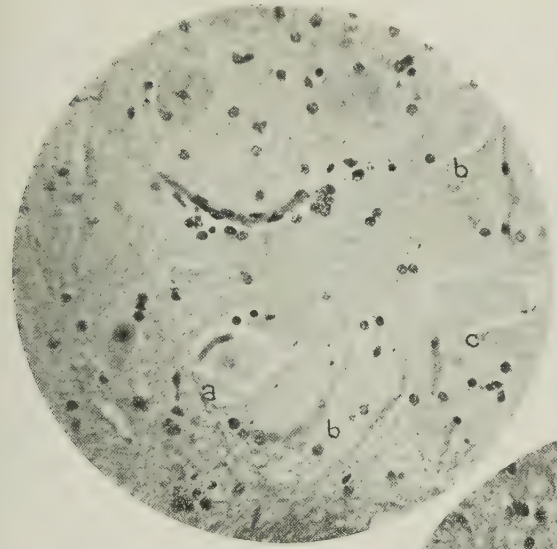


FIG. I.

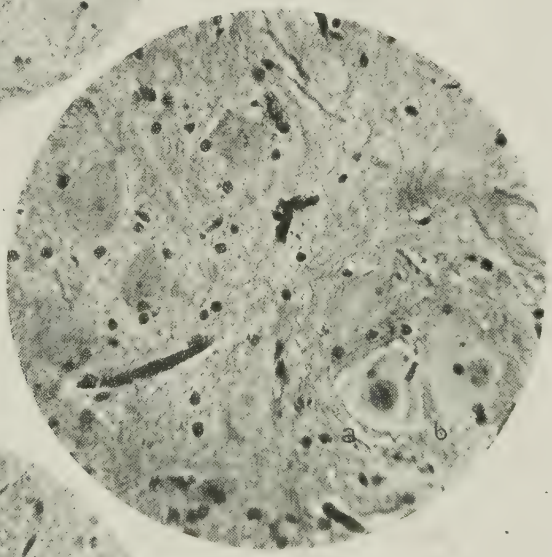


FIG. II.

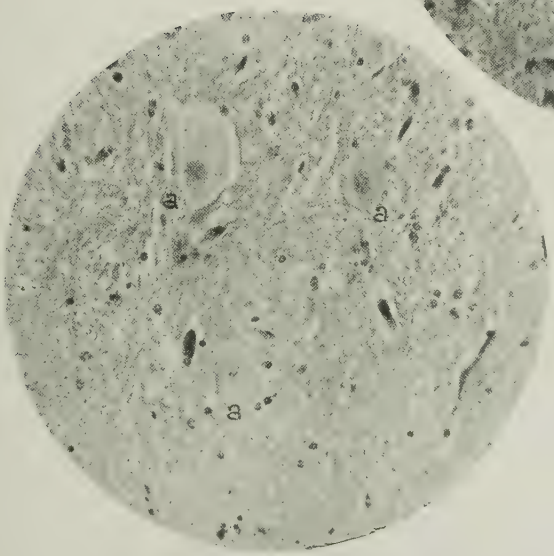


FIG. III.

MASSON ET C^ie^, ÉDITEURS

Planche IV

Scorbut expérimental.

Coupes dans la moelle épinière de cobayes soumis au régime scorbutigène. Imprégnation par le procédé de Bielschowsky.

I. En *a*, on voit la segmentation des neuro-fibrilles.

II, III. Dans ces cellules, on voit la transformation granulaire des neuro-fibrilles.

IV. En *a*, la destruction des neuro-fibrilles est poussée à son dernier stade.

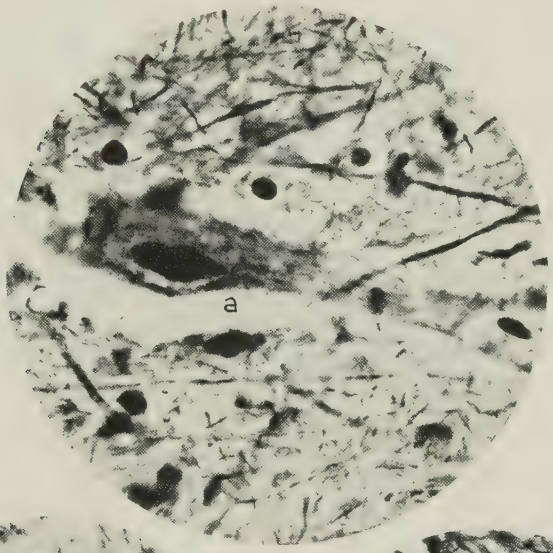


FIG. I.

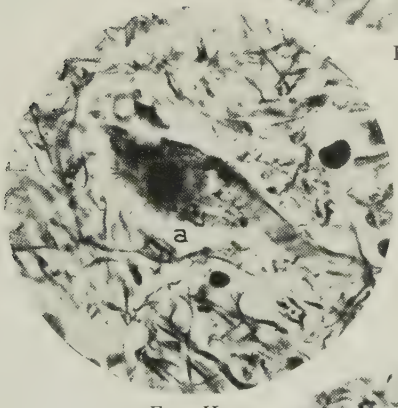


FIG. II.

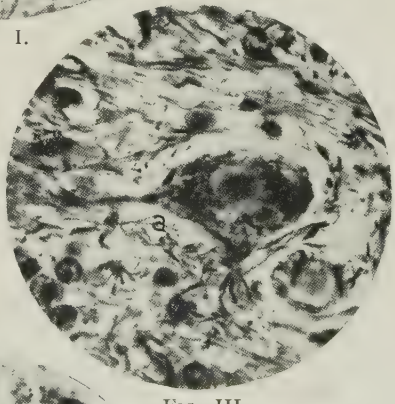


FIG. III.

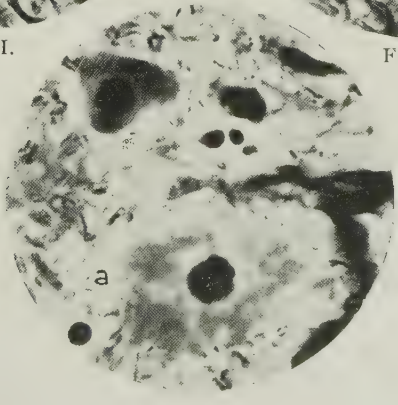


FIG. IV.

MASSON ET C^ie^, ÉDITEURS

Planche V

Béri-béri expérimental.

Coupes dans la moelle épinière de pigeons mis au régime de riz décortiqué.

I, II, III. On voit des cellules ganglionnaires de forme irrégulière, les corpuscules de Nissl ont disparu, le protoplasme a un aspect hyperchromatique soit granuleux, soit filamenteux.

Le noyau, de forme ovalaire, déplacé à la périphérie de la cellule, est tellement hyperchromatique que c'est à peine si on distingue le nucléole.

IV. La cellule est complètement détruite, le protoplasme très pâle, déchiqueté.

Dans le noyau pulvérulent, il persiste encore deux ou trois points de chromatine.

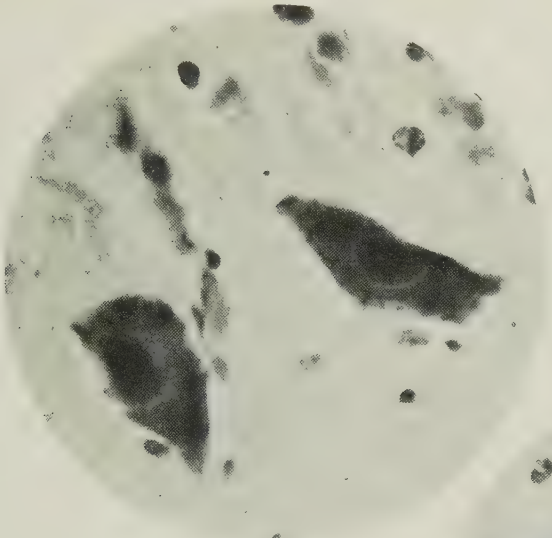


Fig. I.

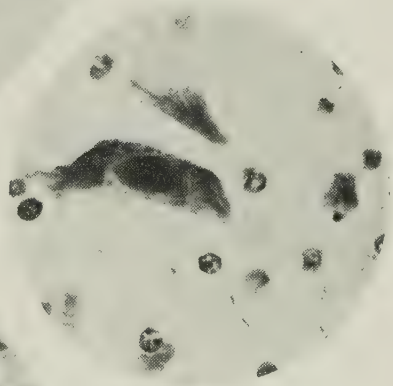


Fig. II.

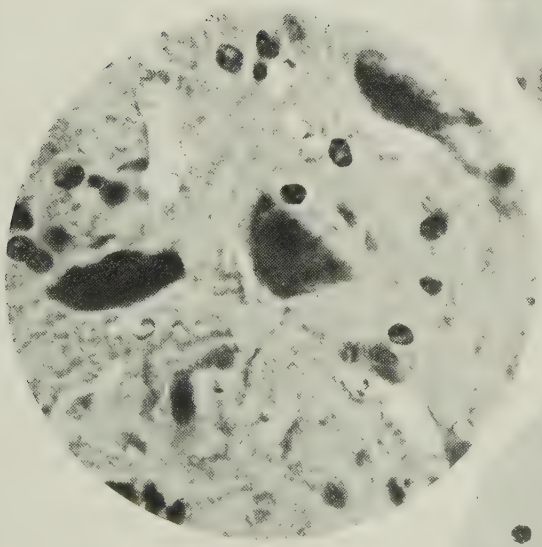


Fig. III.

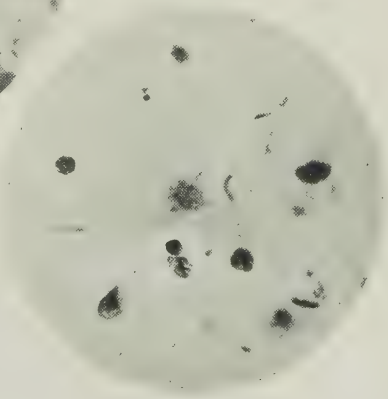


Fig. IV.

Planche VI

Pellagre expérimentale.

Coupes dans la moelle épinière de cobayes mis au régime de farine de maïs + 5 centimètres cubes de jus de citron.

I, II. Cellules ganglionnaires de la corne antérieure de la moelle, de forme irrégulière, d'aspect hyperchromatique. Le noyau, dans la plupart des cellules, est déplacé et hyperchromatique.

III. On voit une cellule ganglionnaire présentant l'aspect de tuméfaction trouble.

IV. On voit deux cellules ganglionnaires altérées, entourées par des cellules gliales et réalisant l'aspect de la neuronophagie.

V, VI. Imprégnation argentique de Bielschowsky. On voit, dans les deux cellules ganglionnaires, la transformation granulaire des neuro-fibrilles.

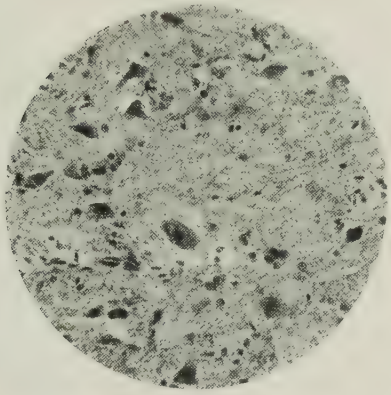


FIG. I.

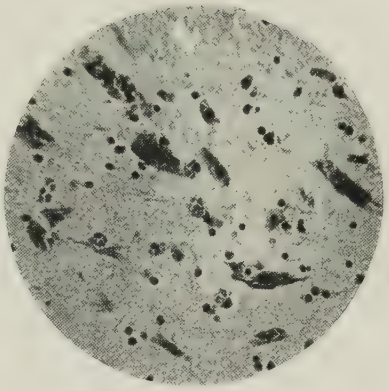


FIG. II.

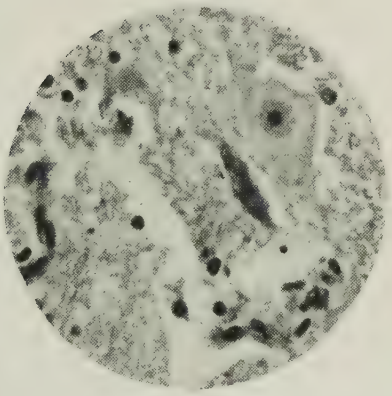


FIG. III.

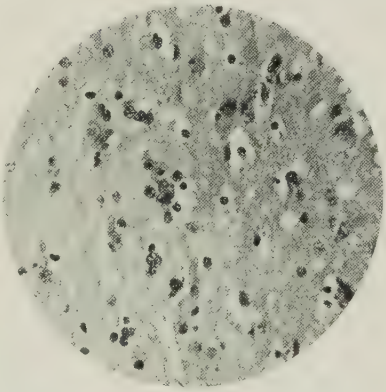


FIG. IV.

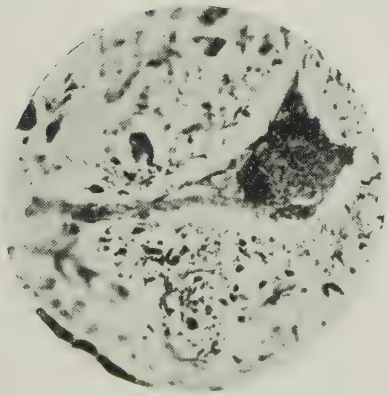


FIG. V.

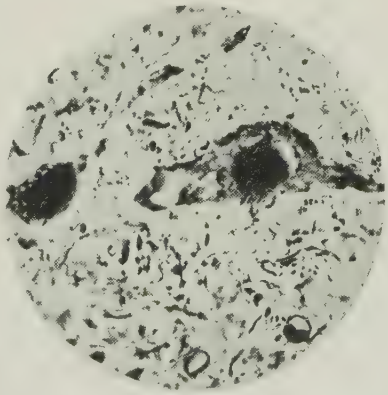


FIG. VI.

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

Planche VII

Pellagre expérimentale.

Coupes dans la moelle épinière de cobayes mis au régime de farine de maïs + 5 centimètres cubes de jus de citron.

I, II, III. On voit des cellules ganglionnaires de forme irrégulière, d'aspect hyperchromatique, granuleux ou filamenteux. Le noyau de forme ovalaire, très hyperchromatique.

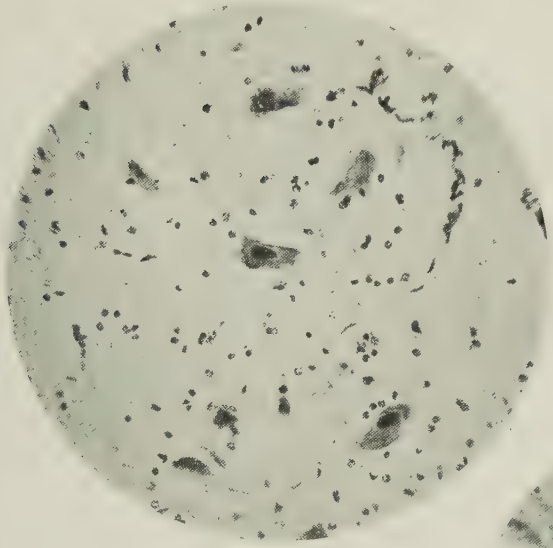


FIG. I.

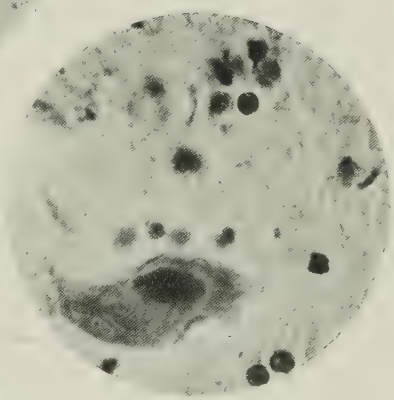


FIG. II.

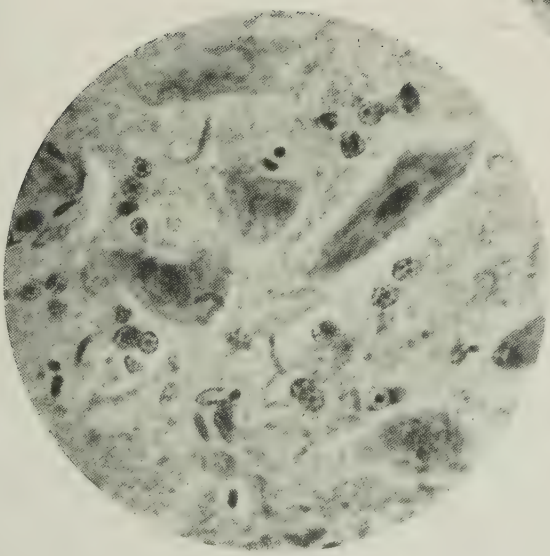


FIG. III.

MASSON ET C^ie^, ÉDITEURS

Planche VIII

Pellagre expérimentale.

Coupes dans la moelle épinière de cobayes mis au régime de farine de maïs + 5 centimètres cubes de jus de citron.

I, II, III. Différents aspects des cellules ganglionnaires dans lesquelles on retrouve l'aspect hyperchromatique et le noyau en tache d'encre, ovalaire.

ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
Tome V. — N° 3. — 1932.

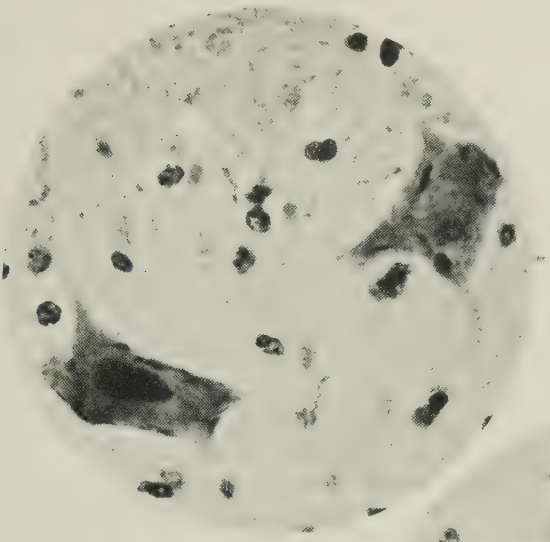


Fig. I.

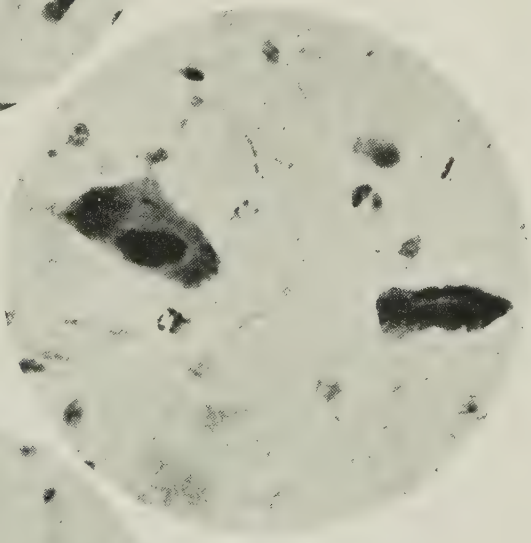


Fig. II.

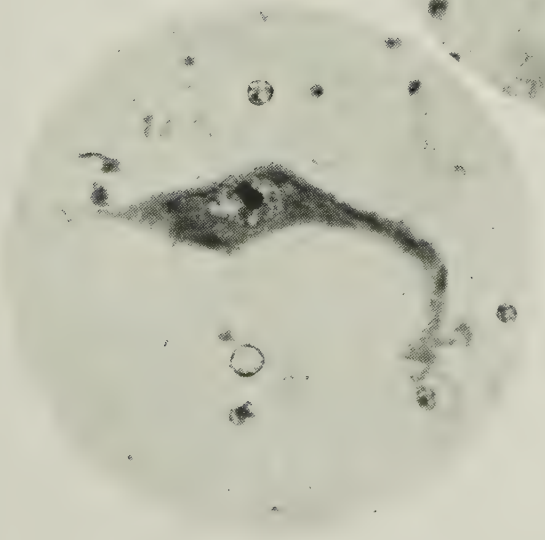


Fig. III.

Masson et C^ie^, éditeurs

ACTION DE LA TOXINE DIPHTÉRIQUE ET DE L'ANATOXINE DIPHTÉRIQUE SUR CERTAINES RÉACTIONS D'IMMUNITÉ

(Anticorps cholériques et hémolysines)

par

Georges MAGHERU et Alice MAGHERU

Dans ce qui suit, nous avons réuni l'ensemble de nos recherches concernant l'action de la toxine et de l'anatoxine diphtérique sur la production d'anticorps cholériques et de l'hémolysine anti-globules de mouton. Certaines de ces recherches ont été communiquées en 1930, 1931, 1932, 1933, à la Société de Biologie de Bucarest.

Nous avons cherché à déterminer : 1° si la toxine diphtérique est capable de stimuler la production d'anticorps hétérogènes ; 2° si, pendant les dernières phases de l'intoxication diphtérique, l'organisme est capable de réagir en produisant des anticorps à la suite de l'inoculation d'un antigène ; 3° si l'anatoxine diphtérique est capable de stimuler la production d'anticorps hétérogènes.

A. — I. — Dans une première série d'expériences, nous avons cherché à déterminer si la toxine diphtérique est capable de stimuler l'apparition d'anticorps cholériques (agglutinines, sensibilisines, précipitines) au cours d'une immunisation anticholérique. Dans ce but, nous avons employé le lapin, comme animal à immuniser ; comme antigène, le vibrion Pottevin et, comme méthode, la suivante : premier jour, 1 : 10 d'une culture sur gélose, chauffée pendant soixante minutes à 58°, en injection intra-péritonéale ; deuxième jour, le même antigène en injection intra-veineuse ; cinquième, septième et neuvième jours, 1 : 10

d'une culture sur gélose non chauffée, en injection intraveineuse.

Afin de connaître la courbe des anticorps pendant l'immunisation, nous avons prélevé à nos lapins une petite quantité de sang les troisième, cinquième, septième et neuvième jours (avant les injections correspondantes de vibrions vivants) et, enfin, le onzième jour, c'est-à-dire quarante-huit heures après la dernière inoculation.

Pour l'*agglutination,* nous avons employé une émulsion standardisée de vibrions mis en contact, à 37°, avec différentes dilutions de sérum. Pour la *fixation* et la *précipitation,* nous avons employé, comme antigène, une culture de vingt-quatre heures sur gélose en plaque Roux, émulsionnée avec 40 centimètres cubes d'eau physiologique, chauffée pendant une heure à 58°, agitée avec des perles pendant vingt-quatre heures et centrifugée. Le liquide surnageant, récolté aseptiquement, constitue l'antigène. Pour la *fixation,* nous avons employé 0,1 de différentes dilutions de sérum appartenant aux lapins immunisés, 0,25 d'antigène, la quantité d'alexine nécessaire et avons ajouté, au bout de quarante-cinq minutes d'incubation à 37°, 1 centimètre cube de globules rouges sensibilisés. Pour titrer les *précipitines,* nous avons employé 0,1 de sérum de lapin immunisé, avec 0,9 de différentes dilutions d'antigène. Nous avons employé dans toutes les réactions mentionnées ci-dessus, pour les témoins, le double de la quantité de sérum ou d'antigène. En même temps, nous avons eu plusieurs témoins avec du sérum de lapin.

Nous avons marqué les résultats obtenus dans le tableau n° 1. Les lapins furent saignés une première fois le troisième jour de l'immunisation. Le titre agglutinant des sérums fut de 1 : 10 à 1 : 20, tandis que les précipitines et les sensibilisines n'étaient point décelables. Avant la première injection de vibrions vivants (cinquième jour), le titre des agglutinines ne dépassa pas 1 : 200, celui des sensibilisines et celui des précipitines étant de 1 : 10 à 1 : 50. Avant la seconde injection de vibrions vivants (septième jour), le pouvoir agglutinant ne dépassa point 1 : 2000; le pouvoir sensibilisant et précipitant des sérums, à ce moment, fut de 1 : 100. Dans le prélèvement de sang qui eut lieu avant la troisième injection de vibrions vivants (neuvième jour), le titre des agglutinines varia entre 1 : 16.000 et 1 : 30.000, celui des précipitines et sensibilisines ne dépassant pas 1 : 500. La dernière saignée (onzième jour) depuis le début de l'immunisation donna les résultats suivants: agglutinines, 1 : 40.000 et 1 : 80.000. Précipitines, 1 : 400 à 1 : 700. Sensibilisines, 1 : 400 à 1 : 800.

TABLEAU I

Evolution des agglutinines, des sensibilisines et des précipitines au cours de l'immunisation anticholérique

		Agglutination					Fixation du compl.					Précipitation				
		Dilution de sérum	Lapins n°s 1	2	3	4	5	Dilution de sérum	Lapins n°s 1	2	3	4	5	Dilution de l'antigène	Lapins n°s 1	2	3	4	5
1er jour.	1 cc. de vbs. tués (périt.).																		
2e jour.	1 cc. de vbs. tués (i.-vein.).																		
3e jour.	Saignée.	1/10	+	±	±	+	+	1/10	-	-	-	-	-	1/10	-	-	-	-	-
		1/20	+	-	-	-	-												
4e jour.	Repos.																		
5e jour.	Saignée.	1/100	+	+	+	+	+	1/10	+	+	+	+	+	1/10	+	+	+	+	+
		1/200	+	-	-	-	+	1/50	+	-	+	-	+	1/50	+	-	+	-	+
		1/300	-	-	-	-	-	1/100	-	-	-	-	-	1/100	-	-	-	-	-
	1 cc. de vbs. vivants (veines).																		
6e jour.	Repos.																		
7e jour.	Saignée.	1/1000	+	+	+	+	+	1/50	+	+	+	+	+	1/50	+	+	+	+	+
		1/2000	+	-	-	-	+	1/100	+	+	+	+	+	1/100	+	+	±	+	+
		1/3000	-	-	-	-	-	1/200	±	-	-	-	±	1/200	±	-	-	-	+
	1 cc. de vbs. vivants (veines).																		
8e jour	Repos.																		
9e jour.	Saignée.	1/16.000	+	+	+	+	+	1/200	+	+	+	+	+	1/200	+	+	+	+	+
		1/20.000	+	-	+	-	+	1/300	+	+	+	+	+	1/300	+	+	+	+	+
		1/30.000	+	-	-	-	+	1/400	+	-	+	-	+	1/400	+	-	+	-	+
		1/40.000		-	-	-	-	1/500	+	-	-	-	+	1/500	+	-	-	-	+
								1/600	+	-	-	-	-	1/600	±	-	-	-	±
	1 cc. de vbs. vivants (veines).																		
10e jour.	Repos.																		
11e	Saignée.	1/40.000	+	+	+	+	+	1/400	+	+	+	+	+	1/400	+	+	+	+	+
		1/50.000	+	±	±	-	+	1/500	+	-	-	-	+	1/500	+	+	-	±	+
		1/60.000	+	-	-	-	+	1/600	+				+	1/600	+	-	-	-	+
		1/70.000	+				+	1/700	-				+	1/700	±				+
		1/80.000	-				+	1/800					±	1/800					-

En résumé, entre la première et la seconde saignée, le titre des agglutinines augmenta de dix fois et le titre des sensibilisines et des précipitines augmenta de 50 à 60 fois. Entre la seconde et la troisième saignée, le titre des agglutinines augmenta également de 10 fois, tandis que celui des sensibilisines et des précipitines doubla parfois, ou augmenta de 10 fois dans d'autres cas. Dans l'intervalle des deux saignées qui suivirent, l'augmentation du titre des agglutinines fut la plus importante : elles augmentèrent de 10 et 15 fois leur titre; les précipitines et sensibilisines, 5 fois le leur. Par contre, entre les deux dernières saignées (onzième jour), le pouvoir agglutinant doubla à peine et les précipitines et sensibilisines ne progressèrent presque pas.

A noter que le lapin n° 10 (tableau III) fit exception : déjà, au septième jour de l'immunisation, le titre agglutinant avait atteint 1 : 40.000, et celui des précipitines et sensibilisines fut également très élevé.

Pour connaître l'action de la toxine diphtérique sur l'évolution des anticorps cholériques, nous avons recherché d'abord la dose de toxine qui, injectée en même temps que 1 centimètre cube de vibrions vivants, permettrait à un lapin de survivre au delà de quarante-huit heures. La toxine employée, vieille d"un an, contenait 10 unités floculantes vis-à-vis du sérum diphtérique employé dans ces expériences. En injectant 1 1/4 d'unité toxique pour le cobaye, sous la peau d'un lapin, nous avons eu, en général, une survie de quarante-huit à soixante-dix heures. Tous les lapins, dans les expériences qui suivent, sont morts dans ce laps de temps, en présentant les lésions caractéristiques de l'intoxication diphtérique. Pour connaître l'action de la toxine diphtérique, nous avons groupé les lapins en 5 lots et procédé comme suit :

Un premier lot de lapins reçut, en même temps que la première injection intra-péritonéale de vibrions chauffés, une injection sous-cutanée de 1 1/4 d'unité de toxine diphtérique. Saignés quarante-huit heures après, les sensibilisines et les précipitines ne sont point décelables, tandis que les agglutinines varient entre 1 : 10 et 1 : 50. Le titre des sérums fut donc sensiblement pareil aux sérums des lapins saignés à la même époque et n'ayant point reçu de toxine diphtérique.

Un second lot de lapins (voir tableau II) fut titré pour ses anticorps le cinquième jour de l'immunisation, avant la première injection de vibrions vivants. Le titre des agglutinines variait entre 1 : 20 et 1 : 100; celui des sensibilisines et celui des préci-

pitines fut de 1 : 10. Après cette saignée, le jour même, ils reçurent sous la peau 1 1/4 d'unité de toxine diphtérique et 1 centimètre cube de vibrions vivants dans les veines. Vingt-quatre heures après l'injection de toxine diphtérique et des vibrions, les titres augmentèrent leur pouvoir de 100 fois jusqu'à 250 fois, et quarante-huit heures après, de 500 fois à 2000 fois leur pouvoir, et arrivèrent ainsi jusqu'à 1 : 50.000, tandis que les lapins témoins (qui n'avaient pas reçu de la toxine diphtérique) ne dépassaient guère, à cette époque, le titre de 1 : 2000. Les précipitines et les sensibilisines suivent la même augmentation vertigineuse en présentant 60 fois le pouvoir de la dernière titration de sérum, tandis qu'à la même époque, les lapins n'ayant pas reçu de toxine ne présentèrent qu'un titre très faible (1 : 100 - 1 : 200).

TABLEAU II

Evolution des agglutinines, des sensibilisines et des précipitines cholériques dans le sérum des lapins ayant reçu de la toxine diphtérique le cinquième jour de l'immunisation

		Agglutination				Fixation du compl.				Précipitation			
		Dilution de sérum	Lapins n°s 6	7	8	Dilution de sérum	Lapins n°s 6	7	8	Dilution de l'antigène	Lapins n°s 6	7	8
5e jour.	Saignée.	1/20	+	+	+	1/10.....	+	+	+	1/10.....	+	+	+
		1/100....	−	±	+	1/40.....	−	±	±	1/40.....	−	±	±
		1/200....	−	−	−								
	1 cc. de vibrions vivants (i.-v.) + tox. dipht. (s.-c.)												
6e jour.	Saignée (24 heures).	1/2000. .	+	+	+	1.200....	+	+	+	1.200....	+	+	+
		1/5000...	+	±	+	1/300...	+	±	+	1/300....	+	±	+
		1/10.000.	±	−	±	1/400....	±	−	±	1/400....	±	−	±
7e jour.	Saignée (36 heures).	1/10.000.	+	+	+	1/300.. .	+	+	+	1/300....	+	+	+
		1/20.000.	±	+	+	1/400....	+	+	+	1/400 ...	+	±	+
		1/30.000.	−	−	−	1/500....	±	±	±	1/500...	+	−	+
	Saignée (48 heures).	1/40.000.	+	+	+	1/500....	+	+	+	1/500....	+	+	+
		1/50.000.	±	+	+	1/600 ...	+	±	±	1/600....	−	−	−
		1/60.000.	−	−	−	1/700 ...	−	−	−				

Les lapins d'un troisième lot (voir tableau III) furent saignés au septième jour de l'immunisation. Le titre agglutinant fut de 1 : 2000; celui des sensibilisines et précipitines fut de 1 : 100.

Un seul lapin, le n° 10, eut un titre agglutinant exceptionnel à cette époque (1 : 40.000), et le titre des précipitines et des sensibilisines de 1 : 600. Le jour même de cette saignée, tous les lapins de ce lot reçurent, sous la peau, 1 1/4 d'unité de toxine

TABLEAU III

Evolution des agglutinines, des sensibilisines et des précipitines cholériques dans le sérum des lapins ayant reçu de la toxine diphtérique le septième jour de l'immunisation

		Agglutination					Fixation du compl.					Précipitation				
		Dilution de sérum	Lapins n°s				Dilution de sérum	Lapins n°s				Dilution de l'antigène	Lapins n°s			
			9	10	11	12		9	10	11	12		9	10	11	12
5e jour.	Saignée.	1/20..... 1/100... 1/200.... 1/500....	+ − 	+ + + −	+ + 	+ + − 	1 10.... 1/50.... 1/100...	± − 	+ + 	± 	+ ± −	1/10.... 1/50. .. 1/100...	+ ± −	+ ± −	+ ± −	+ ± −
	1 cc. de vibrions vivants (i.-v.).															
6e jour.	Saignée.	1/500 . 1/1000... 1/2000... 1/5000...	± ± 	+ + + ±	+ + −	+ + −	1/50 ... 1/100 .. 1/200 ..	+ ± −	+ + ±	+ + −	+ ± −	1/50.... 1/100... 1/200...	+ ± −	+ + ±	+ + −	+ + −
7e jour.	Saignée.	1/2000... 1/5000... 1/10.000. 1.20 000. 1/40.000. 1/50.000.	+ ± 	+ + + + + ±	+ + 	+ ± 	1/100... 1/200. . 1/300 .. 1/600... 1/800...	+ ± 	+ + + + ±	+ ± 	+ ± 	1/100... 1/200 .. 1/300... 1/600... 1/800...	+ ± 	+ + + + +	+ ± 	+ +
	1 cc. de vibrions vivants (i.-v.) + tox. dipht. (s.-c.).															
8e jour.	Saignée.	1/20.000 1/30 000. 1/40 000. 1/50.000. 1/60.000.	+ + ± 	+ + + + ±	+ + ±	+ + +	1/800... 1/1000.. 1/2000.. 1/3000..	+ + ± −	+ + + ±	+ + −	+ + −	1/800... 1/1000.. 1/2000.. 1/3000..	+ + −	+ + −	+ + −	+ + −
9e jour.	Saignée	1/80.000. 1/100.000	± ±	+ ±	+ ±	+ ±	1/2000.. 1/3000..	± −	+ ±	± −	± −	1/1000.. 1/2000.. 1/3000..	+ ± −	+ + −	+ ± −	+ + −

diphtérique et 1 centimètre cube de vibrions vivants dans les veines (deuxième injection de vibrions vivants). Vingt-quatre heures après l'injection de toxine diphtérique et de vibrions, le titre agglutinant augmenta son pouvoir de 15 fois, et après quarante-huit heures, de 40 fois, en atteignant ainsi le titre exceptionnel pour cette époque de 1 : 80.000, tandis que le titre agglutinant des lapins n'ayant pas reçu de toxine diphtérique et saignés à la même date, ne dépassa guère 1 : 30.000. Les sensibilisines et les précipitines augmentèrent, elles aussi, ayant 20 fois leur titre précédent et atteignant 1 : 2000. Un seul lapin fit exception, le n° 10, qui ne fit que doubler le titre de ses agglutinines et tripler le titre des autres anticorps.

Les lapins du quatrième lot (voir tableau IV) furent saignés le neuvième jour de l'immunisation; le titre agglutinant varia entre 1 : 10.000 et 1 : 30.000; le titre des sensibilisines et des

TABLEAU IV

Evolution des agglutinines, des sensibilisines et des précipitines cholériques dans le sérum des lapins ayant reçu de la toxine diphtérique le neuvième jour de l'immunisation

		Agglutination						Fixation du compl.						Précipitation					
		Dilution de sérum	Lapins n°s					Dilution de sérum	Lapins n°s					Dilution d'antigène	Lapins n°s				
			13	14	15	16			13	14	15	16			13	14	15	16	
9e jour.	Saignée.	1/10.000.	+	+	+	+		1/200..	+	+	+	+		1/200..	+	+	+	+	
		1/20.000.	+	+	—	—		1/300..	+	+	—	—		1/300..	+	+	±	±	
		1/30.000.	±	+	—	—		1/400..	—	±				1/400.	—	±			
		1/40 000.	—	—	—	—													
	1 cc. de vibrions vivants (i.-v.) + toxine dipht. (s.-c.)																		
10e jour.	Saignée.	1/20.000.	+	+	+	+		1/400..	+	+	+	+		1/400..	+	+	+	+	
		1/40.000	+	+	+	+		1/500..	+	+	±	±		1/500..	+	+	±	±	
		1/60.000.	±	+	—	—		1/600..	+	+				1/600..	+	+			
		1/80.000.	—	±	—	—		1/700..	±	±				1/700..	—	—			
								1/800..		±									
11e jour.	Saignée.	1/20.000.	+	+	Mort	Mort		1/800..	+	+	Mort	Mort		1/800..	+	+	Mort	Mort	
		1/40.000.	+	+				1/1000.	+	+				1/1000.	+	+			
		1/60.000.	+	+				1/2000.	—	±				1/2000.	—	—			
		1/80.000.	±	±															

précipitines varia entre 1 : 200 et 1 : 400. Après cette saignée, le jour même, ils reçurent 1 centimètre cube de vibrions vivants dans les veines (troisième injection dès le début de l'immunisation) et 1 1/4 d'unité de toxine diphtérique sous la peau. Après l'injection de toxine, en vingt-quatre heures, le titre agglutinant augmenta de 4 fois, et vingt-quatre heures après, le même fut de 6 fois plus élevé. Les sensibilisines et les précipitines augmentèrent de 3 fois leur titre.

Le cinquième lot de lapins contenait : 4 lapins saignés le dix-septième jour de l'immunisation et qui, après cette saignée, le jour même, reçurent sous la peau 2 unités de toxine diphtérique, et 4 lapins témoins n'ayant pas reçu de toxine diphtérique. Ces lapins furent saignés au bout de vingt-quatre heures et au bout de quarante-huit heures (voir tableau V). Tous les lapins de ces lots, les témoins aussi bien que les lapins ayant reçu de la toxine diphtérique, ont donné des sérums dont le titre a à peine varié dans le courant de ces quarante-huit heures.

En résumé, la toxine diphtérique a une action nettement stimulante sur la formation des agglutinines, des précipitines et des sensibilisines. Cette action stimulante ne se manifeste pas dès le début, lorsque la formation des anticorps est lente; elle ne se manifeste pas non plus aux dernières périodes, lorsque les anticorps ont déjà été produits en grande quantité. Au contraire, l'action stimulante est très importante, à commencer par le cinquième jour de l'immunisation. Sous l'influence de la toxine diphtérique, les agglutinines augmentent leur titre de 100 fois et de 2000 fois, tandis que les précipitines et les sensibilisines augmentent le leur de 50 à 60 fois. De même, l'action stimulante de la toxine diphtérique se manifeste, sans doute en moindre mesure, le septième jour; sous l'influence de cette toxine, les agglutinines augmentent leur titre de 40 fois en quarante-huit heures, tandis que les sensibilisines et les précipitines augmentent le leur de 20 fois. Cette action stimulante, nous le voyons, consiste plutôt dans l'accélération de la formation des anticorps qui arrivent très tôt à des titres qu'ils auraient atteint même sans l'aide de la toxine, quelques jours plus tard; nous n'avons jamais obtenu à l'aide de la toxine diphtérique, dans les sept premiers jours de l'immunisation, un titre dépassant de beaucoup celui que, généralement, nous trouvions à la fin de l'immunisation.

II. — Dans une seconde série d'expériences, nous avons voulu savoir si la toxine diphtérique est capable de stimuler la production d'hémolysines. Dans ce but, nous avons choisi également

des lapins et, comme antigène, le sang défibriné de brebis (lavé 4 fois avec de l'eau physiologique et rapporté à son volume initial). L'immunisation se fait ainsi : 3 injections intraveineuses de globules rouges à trois jours d'intervalle, respectivement

TABLEAU V

Evolution des agglutinines, sensibilisines et précipitines, le dix-septième jour de l'immunisation

1° Lapins n'ayant pas reçu de la toxine diphtérique.

		Agglutination					Fixation du compl.					Précipitation				
		Dilution de sérum	Lapins n°s				Dilution de sérum	Lapins n°s				Dilution d'antigène	Lapins n°s			
			17	18	19	20		17	18	19	20		17	18	19	20
17e jour.	Saignée.	1/30.000	+	+	+	+	1/400...	+	+	+	+	1/400...	+	+	+	+
		1/40.000	±	+	+	±	1/600...	−	+	±	−	1/600...	±	+	±	−
		1/50.000	−	±	−	−	1/800...	−	±			1/800...		±		
18e jour.	Saignée.	1/40.000	+	+	+	+	1/400...	+	+	±	−	1/400...	+	+	+	+
		1/50.000	−	+	+	±	1/600...	−	+	±	−	1/600...	+	±	±	−
		1/60.000	−	±	−	−	1/800...		+			1 800...	−			
19e jour.	Saignée.	1/40.000	+	+	+	+	1/400...	+	+	+	+	1/400...	+	+	+	+
		1/50.000	−	+	+	−	1/600...	−	+	±	−	1/600...	±	+	±	−
		1/60.000	−	±	−	−	1/800...	−	±			1/800...	−	±		

2° Lapins ayant reçu de la toxine diphtérique.

		Agglutination					Fixation du compl.					Précipitation				
		Dilution de sérum	Lapins n°s				Dilution de sérum	Lapins n°s				Dilution d'antigène	Lapins n°s			
			21	22	23	24		21	22	23	24		21	22	23	24
17e jour.	Saignée.	1/50.000	+	+	+	+	1/600 ..	+	±	±	+	1/600 ..	+	+	+	+
		1/60.000	+	−	−	±	1/800 ..	+	−	−	+	1/800 ..	+	−	−	+
		1/70.000	−	−	−		1/1000..	−			±	1/1000..	−			−
	Toxine dipht. (s.-c.)															
18e jour	Saignée.	1/50.000	+	+	+	+	1/600 ..	+	+	+	+	1 600 ..	+	+	+	+
		1/60.000	+	±	−	+	1/800 ..	+	±	±	+	1/800 ..	+	−	−	+
		1/70.000	±	−	−	−	1/1000..	−	−	−	−	1/1000..	−	−	−	−
19e jour.	Saignée.	1/50.000	+	+	+	+	1/600 ..	−	±	+	+	1/600 ..	+	+	+	+
		1/60.000	+	+	−	+	1/800 ..	+	−	−	+	1/800 ..	+	−	−	+
		1/70.000	−	−	−	−	1/1000..	−	−	−	−	1/1000..	−	−	−	−

5 centimètres cubes, puis 3 centimètres cubes et ensuite 1 centimètre cube. Pour établir la courbe de la production de l'hémolysine, nous avons saigné les lapins tous les jours. Le troisième et le cinquième jour, la saignée se fit avant l'injection de globules. La titration se fit en mettant en contact 0,5 d'alexine à 1 : 10 et 1 centimètre cube de globules rouges de mouton lavés et dilués à 1 : 20, avec différentes dilutions de nos sérums. Le tableau VI indique les résultats sur 8 lapins. Nous voyons qu'entre le premier et le sixième jour, le titre des hémolysines dans le sérum des lapins nos 45, 46, 48, 49, augmente lentement, ne dépassant

TABLEAU VI

Evolution des hémolysines au cours de l'immunisation a globules rouges

		Titre hémolytique des sérums provenant des lapins nos							
		45	46	47	48	49	50	51	52
	5 cc. de globules (int.-vein.).								
1er jour.	Saignée.	1/10	1/10	1/10	—	1/10	1/25		
2e jour.	Saignée.	1/10	1/20	1/10	1/10	1/10	1/50		
3e jour.	Saignée.	1/20	1/50	1/100	1/50	1/25	1/100		
	3 cc. de globules (int.-vein.).								
4e jour.	Saignée.	1/50	1/75	1/200	1/50	1/50	1/200	1/200	1/100
5e jour.	Saignée.	1/50	1/100	1/400	1/100	1/100	1/500	1/200	1/100
6e jour.	Saignée.	1 100	1/100	1/800	1/200	1/2000	1/1000	1/1500	1/1000
	1 cc. de globules (int.-vein.).								
7e jour.	Saignée.	1/2000	1 3000	1/2000	1/1500	1/2000	1/2000	1/1500	1/500
8e jour.	Saignée.	1/2000	1/3500	1 3000	1/2000	1/2500	1/3000	1/1500	1/500
9e jour.	Saignée.	1 2000	1/3500	1/3000	1/2000	1/2000	1/3000	1/1500	1/2000

pas, au sixième jour, le titre de 1 : 100 et 1 : 200. Entre le sixième et le septième jour, c'est-à-dire après la troisième injection de globules, leur titre augmente de 10 fois et arrive ainsi, en vingt-quatre heures, jusqu'à 1 : 2000. Il en est de même pour les lapins n°s 51 et 52; mais entre le cinquième et le sixième jour, donc avant l'injection de globules rouges, 2 lapins firent exception à cette règle : le lapin n° 47, dont l'hémolysine augmenta son titre de 10 fois, entre le deuxième et le troisième jour, en montant brusquement de 1 : 10 à 1 : 100; après cette date et jusqu'au septième jour, l'hémolysine doubla son titre chaque jour; de même, le lapin n° 50, à partir du premier jour, doubla quotidiennement le titre de son hémolysine jusqu'au septième jour. Il existe donc 2 types de courbes dans la production des hémolysines : l'un par augmentation brusque, qui se fait généralement entre le sixième et le septième jour, et l'autre que l'on rencontre plus rarement, par augmentation progressive. Soit que l'on se trouve en présence de l'un ou de l'autre de ces deux types, aucun des sérums employés au cours de ces expériences n'a dépassé, au quatrième jour, le titre de 1 : 200, exception faite pour le lapin n° 70 (tableau IX) ayant, au quatrième jour, le titre de 1 : 500.

Pour savoir si la toxine diphtérique a ou n'a pas un pouvoir stimulant pour la production de l'hémolysine, nous avons procédé somme suit, en groupant les nouveaux lapins en 4 lots :

Les lapins du premier lot reçurent sous la peau 3 unités (pour le cobaye) de toxine diphtérique, en même temps que la première injection de globules rouges. Les lapins de ce premier lot furent saignés vingt-quatre heures et quarante-huit heures après l'injection de toxine diphtérique (tableau VII). Ils eurent un titre égal ou inférieur au sérum des lapins n'ayant point reçu de toxine diphtérique et récolté au même moment de l'immunisation. Tous les lapins de ce lot sont morts le troisième et le quatrième jour, avec tous les signes caractéristiques de l'intoxication diphtérique.

Les lapins du second lot (voir tableau VIII) furent saignés le troisième jour de l'immunisation. Aucun des lapins n'a eu, le troisième jour, un titre hémolytique plus élevé que celui de 1 %. Le jour même de cette saignée, les lapins reçurent sous la peau, en même temps que 3 centimètres cubes de globules rouges, dans les veines, 3 unités de toxine diphtérique. Un des lapins est mort en vingt heures, les autres au bout de quarante-huit heures et soixante-dix heures. Vingt-quatre heures après l'injection de

TABLEAU VII

Evolution des hémolysines dans le sérum des lapins ayant reçu de la toxine diphtérique en même temps que la première injection de globules

		Titre hémolytique du sérum provenant des lapins n°s			
		53	54	55	56
	.5 cc. de globules (int.-vein.), + 3 unités de toxine dipht. (s.-c.)				
1er jour.	Saignée.	1/10	1/10	1/10	1/50
2e jour.	Saignée.	1/50	1/25	1/20	1/100
3e jour.	Saignée.	Mort	1/50	1/50	Mort
4e jour.	Saignée.		Mort	Mort	

TABLEAU VIII

Evolution des hémolysines dans le sérum des lapins ayant reçu de la toxine diphtérique le troisième jour de l'immunisation de globules (3 unités toxiques)

		Titre des hémolysines provenant des lapins n°s							
		57	58	59	60	61	62	63	64
	5 cc. de globules (int.-vein.).								
1er jour.	Saignée.	1/10	1\10	—	—	1/10	1/10	1/25	1/25
2e jour.	Saignée.	1/20	1\50	1\20	1/10	1/25	1/20	1/50	1/50
3e jour.	Saignée.	1/50	1/100	1/50	1/25	1\100	1/50	1\50	1/100
	3 cc. de globules+toxine dipht. (3 U.).								
4e jour.	Saignée.	1/2000	1/3500	1/100	1/2000	1/3000	1/3000	Mort	1/3000
5e jour.	Saignée.	Mort	Mort	1/1500	Mort	1/5000	Mort		1/3000
6e jour.				Mort		Mort			Mort

globules et de toxine, à l'exception du lapin n° 59, tous les sérums augmentèrent leur titre de 30 jusqu'à 60 fois, arrivant ainsi à 1 : 3500 le cinquième jour, et à 1 : 5000 le cinquième jour (lapin n° 61), titre particulièrement grand pour cette époque de l'immunisation. Le lapin n° 59 fit exception en augmentant son titre de 15 fois, mais quarante-huit heures après l'injection de toxine seulement. Tous les lapins de ce lot sont morts en présentant des lésions caractéristiques de l'intoxication diphtérique.

Pour savoir si le résultat est le même, alors que l'on augmente ou que l'on diminue la dose de toxine diphtérique, nous avons préparé une nouvelle série de 8 lapins, qui reçurent, en même temps que la seconde injection intraveineuse de globules rouges, une injection sous-cutanée de toxine diphtérique. Quatre de ces lapins reçurent une demi-unité toxique, les autres 15 unités de la même toxine. Dans le sérum des lapins qui avaient reçu la petite quantité de toxine diphtérique (voir tableau IX), l'hémolysine n'augmenta pas d'une façon visible les premières vingt-quatre heures après l'injection. Dans les quarante-huit heures qui suivirent l'injection, les sérums de quelques-uns de ces lapins augmentèrent leur titre de 5 et de 10 fois (lapin n° 65), en atteignant 1 : 2000 le cinquième jour de l'immunisation. Les lapins ayant reçu la grande dose de toxine succombèrent tous en moins de vingt-quatre heures; le titre de leur hémolysine ne varia point dans cet intervalle de temps, à l'exception du lapin n° 70 dont le titre doubla. Tous les lapins montrèrent, à l'autopsie, l'ensemble des lésions caractéristiques de l'intoxication diphtérique.

Les lapins du troisième lot furent saignés un jour après la dernière injection de globules (septième jour), alors que l'augmentation brusque du titre des hémolysines s'était déjà produite; les lapins reçurent le même jour la toxine diphtérique en injection sous-cutanée, en procédant comme indiqué au tableau X.

Les lapins n^{os} 73 et 74 reçurent une demi-unité toxique; les lapins n^{os} 75 et 76, 3 unités toxiques, et les lapins n^{os} 77 et 78, 10 unités de toxine diphtérique. Les 2 premiers lapins survécurent, les 4 derniers moururent au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures, en présentant toutes les lésions de l'intoxication diphtérique.

Les hémolysines furent titrées vingt-quatre heures, et puis quarante-huit heures après l'injection de toxine, chez les lapins survivants.

TABLEAU IX

Evolution des hémolysines dans le sérum des lapins ayant reçu, le troisième jour de l'immunisation, de la toxine diphtérique en grande quantité et en dose sous-mortelle

		Titre hémolytique des sérums provenant de							
		Lapins ayant reçu 1/2 unité toxique, nos				Lapins ayant reçu 15 unités toxiques, nos			
		65	66	67	68	69	70	71	72
3e jour.	Saignée.	1/100	1/100	1/25	1/50	1/50	1/500	1/25	1/25
	3 cc. globules + toxine dipht.								
	Saignée (10 heures).					1/50	1/500	1/50	1/100
	Saignée (15 heures).					1/50	1/1000	1/50	
	Saignée (20 heures).								
4e jour.		1/200	1/100	1/100	1/100				
5e jour.		1/2000	1/500	1/200	1/500				
6e jour.		1/1500	1/500	1/500	1/500				
7e jour.		1/1500	1/1000	1/500	1/500				
8e jour.		1/1500	1/1000	1/500	1/500				

TABLEAU X

Evolution des hémolysines dans le sérum des lapins ayant reçu de la toxine diphtérique le septième jour de l'immunisation

		Titre hémolytique des sérums provenant des lapins nos					
		73	74	75	76	77	78
7e jour.	Saignée.	1/2000	1/2000	1/3000	1/1500	1/1500	1/1000
	Toxine dipht.						
8e jour.	Saignée.	1/2000	1/2000	1/2500	1/2000	1/1500	1/1000
9e jour.	Saignée.	1/2000	1/2000	Mort	1/2000	Mort	Mort
10e jour.	Saignée.	1/2000	1/2000		Mort		

Aucun des sérums des lapins de ce lot ne présenta de changement dans les titres de l'hémolysine.

Le quatrième lot de lapins (voir tableau XI) contenait 10 lapins saignés le quatorzième jour de l'immunisation. 2 de ces lapins reçurent en injection sous-cutanée, après avoir été saignés, une demi-unité de toxine diphtérique; 2 autres lapins reçurent 3 unités, tandis que 2 autres en reçurent 10 chacun; enfin, 4 lapins furent gardés comme témoins.

Les lapins ayant reçu 10 unités succombèrent vingt-quatre à trente heures après. Les lapins qui en avaient reçu 3 moururent au bout de cinquante à soixante heures, en présentant toutes les lésions de l'intoxication diphtérique. Aucun des sérums de ces lapins, qu'ils aient reçu de la toxine ou non, saignés le quinzième, le seizième, le dix-septième jour de l'immunisation, ne montra aucune variation importante dans l'évolution de l'hémolysine.

En résumant les expériences relatives à l'action de la toxine diphtérique sur l'évolution des hémolysines, nous pouvons conclure que la toxine diphtérique a une action nettement stimulante sur cet anticorps; cette action ne détermine pas une augmentation du titre de cet anticorps, mais seulement son apparition

TABLEAU XI

Evolution des hémolysines le quatorzième jour de l'immunisation

		Titre hémolytique des sérums provenant de									
		lapins ayant reçu de la toxine diphtérique						lapins n'ayant pas reçu de toxine, n°s			
		1/2 U. tox., n°s		3 U. tox., n°s		10 U. tox., n°s					
		79	80	81	82	83	84	85	86	87	88
14e jour.	Saignée.	1/3000	1/3000	1/3000	1/2500	1/3000	1/4000	1/3000	1/2500	1/4000	1/5000
	Toxine dipht.										
15e jour.	Saignée.	1/3000	1/3000	1/3000	1/2000	1/3000	1 4000	1/3000	1/2500	1/4000	1/5000
16e jour.	Saignée.	1/3000	1/3000	1 3000	1/2500	Mort	Mort	1/3000	1/2500	1/3500	1/5000
17e jour.	Saignée.	1/3000	1 2500	Mort	Mort			1/3000	1/2000	1/3500	1/5000

précoce. Elle ne se produit, du reste, qu'à un certain moment de l'évolution de cet anticorps, c'est-à-dire vers le troisième jour de l'immunisation; à cette époque, la toxine diphtérique, injectée en même temps que la seconde inoculation de globules rouges, accélère de soixante-dix heures l'apparition d'une grande quantité d'hémolysine. Au contraire, en injectant la toxine diphtérique le premier jour de l'immunisation, le septième jour ou bien le quatorzième jour, l'action stimulante de la toxine ne se produit pas. Nous pouvons donc dire que l'action stimulante de la toxine diphtérique sur la formation de l'hémolysine est fonction de moment. Cette action est en même temps fonction de dose.

En effet, la toxine diphtérique, même si elle a été injectée le troisième jour, n'a pas d'action stimulante importante si la dose est assez grande pour pouvoir tuer l'animal en moins de vingt-quatre heures. Si, au contraire, la dose injectée le troisième jour a été sous-mortelle, l'action stimulante a été nulle ou s'est manifestée tardivement, c'est-à-dire quarante-huit heures après l'injection de toxine.

B. — En corrélation avec des expériences citées, nous avons voulu savoir si, dans les dernières phases de l'intoxication diphtérique, l'organisme est capable de réagir à la suite de l'introduction d'un antigène par la production d'anticorps. Dans ce but, nous avons injecté dans les veines de quelques lapins, le cinquième jour de l'immunisation, 1 centimètre cube de vibrions vivants et, en même temps, 3 doses (mortelles pour le cobaye) de toxine diphtérique sous la peau. Ces lapins furent saignés plusieurs fois par jour pendant les dernières phases de l'intoxication diphtérique. Voici quelques-uns de ces résultats :

Le sérum du lapin n° 30, dont le titre agglutinant, quinze heures avant sa mort, était de 1 : 20.000. Le titre du sérum récolté sur les cadavres fut de 1 : 30.000. Le sérum du lapin n° 32 montra, six heures avant la mort de l'animal, 1 : 20.000 de pouvoir agglutinant; pendant l'agonie de l'animal, il fut de 1 : 30.000. Le sérum du lapin n° 33, quinze heures avant la mort de l'animal, agglutinait à 1 : 15.000, tandis que, cinq heures avant cette mort, le titre était à 1 : 20.000.

Nous avons agi de même pour voir si, dans les dernières phases de l'intoxication diphtérique, le titre des hémolysines était en train de monter. Une série de lapins reçurent, le troisième jour de l'immunisation, 3 centimètres cubes de globules rouges dans les veines et, en même temps, en injection sous-cutanée, 3 doses mortelles (pour le cobaye) de toxine diphtérique; les lapins

furent saignés dans les dernières phases de l'intoxication. Voici quelques résultats :

Le sérum du lapin n° 35 montra, six heures avant la mort de l'animal, 1 : 100 d'hémolysine; cinq heures après, le titre fut de 1 : 500; le sang extrait du cœur de l'animal, après sa mort, fut 15 fois aussi puissant. Le sérum du lapin n° 36 présenta, dix heures avant la mort de l'animal, un titre de 1 : 500; le sérum de ce même animal, *post mortem*, eut le titre hémolysant de 1 : 1000. Le lapin n° 37, dix heures avant la mort de l'animal, eut le titre d'hémolysine de 1 : 1000; cinq heures après, le titre fut de 1 : 1500, tandis que le titre du sérum de l'animal, *post mortem*, fut de 1 : 2000.

Tout ceci prouve que l'organisme, quoique profondément intoxiqué par la toxine diphtérique, est capable de produire des anticorps (hémolysine et agglutinines), et que cette production se fait jusqu'au derniers moments de la vie.

C. — Dans une nouvelle série d'expériences, nous avons cherché à déterminer si l'anatoxine diphtérique est capable de stimuler la production d'anticorps hétérogènes. L'anatoxine employée, colorée au bleu de méthylène, avait, vis-à-vis du sérum avec lequel nous avions titré la toxine diphtérique, 12 unités floculantes. Pour voir si l'anatoxine possédait une action stimulante sur les anticorps, nous avons préparé 3 séries d'animaux :

Première série (voir tableaux XII et XIII, première série). — Cette série comprend deux groupes de lapins :

a) Les uns ont reçu 2 injections d'émulsion de vibrions cholériques tués par chauffage et, après deux jours de repos, ils ont été inoculés 3 fois, à quarante-huit heures d'intervalle, avec 1 centimètre cube d'émulsion de vibrions cholériques vivants. En même temps que ces 3 dernières inoculations, des lapins ont reçu 1 centimètre cube (lapins n^{os} 90 et 91) ou 1,5 centimètre cube (lapins n^{os} 92 et 93) d'anatoxine diphtérique.

b) Les autres ont reçu, dans les veines, à trois jours d'intervalle, 5, 3 et 1 centimètres cubes de globules rouges de mouton; en même temps que ces inoculations, ils reçurent sous la peau : les uns, 1 centimètre cube d'anatoxine diphtérique (lapins n^{os} 106 et 107); les autres, 1,5 centimètre cube de cette même anatoxine (lapins n^{os} 108 et 109).

Deuxième série (voir tableaux XII et XIII, deuxième série). — Ces lapins ont reçu : les uns, 1 centimètre cube; les autres, 1,5 d'anatoxine diphtérique. Après quinze jours de repos, nous leur avons inoculé 1,5 d'anatoxine (lapins n^{os} 94, 95, 110 et 111),

et 2 centimètres cubes d'anatoxine (lapins nos 96, 97, 112 et 113).

En même temps que cette dernière injection, on commença l'immunisation de certains d'entre eux (lapins nos 94, 95, 96, 97) en leur inoculant des vibrions cholériques, tandis que les autres (nos 110, 111, 112, 113) reçurent des globules rouges de mouton. Les animaux ayant reçu des vibrions reçurent, en plus, 3 injections d'anatoxine le cinquième, le septième et le neuvième jour de l'immunisation cholérique. Les autres reçurent chacun 2 injections d'anatoxine le troisième et le septième jour de l'immunisation à globules rouges.

Troisième série (voir tableaux XII et XIII, troisième série). — Ces lapins ont reçu, à quinze jours d'intervalle : les uns, 1, 1,5 et 2 centimètres cubes d'anatoxine diphtérique (lapins nos 98, 99, et 114, 115); les autres (lapins nos 100, 101, 116, 117), 1, 2 et 3 centimètres cubes de cette même anatoxine. En même temps que la dernière injection d'anatoxine, les lapins nos 98, 99, 100 et 101, furent immunisés contre le choléra, tandis que les lapins nos 114, 115, 116 et 117, reçurent des globules rouges (comme les précédents). En même temps que les injections immunisantes de vibrions et de globules, ces lapins reçurent, à la même époque que ceux de la deuxième série, les nouvelles injections d'anatoxine.

Pour chaque groupe de lapins, nous avons fait des témoins en remplaçant l'anatoxine diphtérique par le bouillon (au *p*H-8) au bleu de méthylène (ayant la même teinte que l'anatoxine) et formolé à 1 ‰. Huit jours après l'inoculation de vibrions et de globules rouges, nous avons recherché le pouvoir antitoxique du sérum de ces lapins, en mélangeant différentes quantités de ces sérums à L + d'une toxine diphtérique. Nous avons titré les hémolysines des lapins ayant reçu des globules rouges, ainsi que les agglutinines de ceux qui avaient reçu des vibrions. Nous avons saigné les lapins toutes les vingt-quatre heures pour rechercher le pouvoir hémolytique du sérum, et toutes les quarante-huit heures pour le pouvoir agglutinant, jusqu'au onzième jour de l'immunisation. Voici nos résultats : le pouvoir antitoxique du sérum des lapins de la première série n'a pas dépassé 1 : 25, tandis que celui des lapins de la deuxième série a dépassé 1 : 50 et celui des lapins de la troisième série dépassa 1 %. En ce qui concerne les hémolysines et les agglutinines, tous les sérums des animaux appartenant aux 3 séries ont eu sensiblement le même titre que leurs témoins. Au contraire (et peut-être est-ce simplement une coïncidence), certains témoins, ayant reçu 3 fois du bouillon coloré et formolé à cinq jours d'intervalle, nous ont

TABLEAU XII

		Dilution de sérum	Évolution des agglutinines cholériques chez les lapins ayant reçu de l'anatoxine diphtérique — 1re série, n°s 90	91	92	93 — 2e série, n°s 94	95	96	97 — 3e série, n°s 98	99	100	101	Lapins témoins ayant reçu du bouillon, n°s 102	103	104	105
1er jour.	Vibrions tués.															
2e jour	Vibrions tués.															
3e jour.	Saignée.	1/10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		1/20	−	+	+	+	+	−	+	+	−	+	+	−	+	+	+	+
		1/50		−	−	−	±	−	−	−	−	−	−		−	−	−	±
4e jour.																
5e jour.	Saignée.	1/100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		1/200	−	+	+	+	+	−	±	+	−	−	+	−	+	−	+	+
		1/300		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−		−		−	−
	Vibrions vivants + anatoxine.															
6e jour.																
7e jour	Saignée.	1/500	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+
		1/1000		+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+	±	+	+	+
		1/2000		−		−	±	−	±	±		−	−	−		−	+	+
	Vibrions vivants + anatoxine.															
8e jour.																
9e jour.	Saignée.	1/5000	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		1/10.000		+	+	+	+		+	+	−	+	+	+	+	+	+	+
		1/20.000		±	−	±	±		−			−	−	−	−	+	±	+
	Vibrions vivants + anatoxine.															
10e jour.																
11e jour.	Saignée.	1/20.000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		1/30.000	−	±	−	±	+	−	−	±	−	−	−	−	+	+	+	+
		1/40.000					−								+	±	+	+
		1/50.000													-	−	±	-

TABLEAU XIII

		Dilution du sérum	Titre hémolytique des sérums provenant des lapins ayant reçu de l'anatoxine diphtérique												Lapins témoins ayant reçu du bouillon formolé, n°s			
			1re série, nos				2e série, nos				3e série, nos							
			106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121
	5 cc. gl. + anat.																	
1er jour.	Saignée.	1/10	+	+	−	+	−	−	+	+	+		−	+	−	−		+
		1 25										+					+	
2e jour.	Saignée.	1/10	+	+	+	+	+	+			+		−	+	+	+		+
		1/25							+	+		+					+	
		1/50				−												
3e jour.	Saignée.	1/25	+	+	+		+				+		+	+	+	+		+
		1/50				+		+	+	+		+					+	
		1 100								+								
	3 cc .gl. + anat.																	
4e jour.	Saignée.	1/50		+			+				+				+	+		+
		1/75	+															
		1/100			+			+	+				+	+			+	
		1/200. ..				+				+		+						
5e jour.	Saignée	1 100		+			+				+				+	+		+
		1/200	+		+			+	+			+	+	+			+	
		1/300				+				+								
6e jour.	Saignée.	1/200 ...		+	+		+				+				+	+		+
		1/300	+			+			+				+	+			+	
		1/400. ..						+				+						
		1/500 ...				+				+								
		1,600									+							
		1/1000 ..																
	1 cc. glob.																	
7e jour.	Saignée.	1/2000 ...		+	+		+	+			+	+			+	+		+
		1/2500 ...	+			+			+				+	+			+	
		1/3000 ...								+		+						
		1/4000 ...									+							
	Anatox.																	
8e jour.	Saignée.	1/2000.		+	+		+	+			+	+			+	+		+
		1/3000 ..	+			+			+				+	+			+	
		1/4000 ...						+		+		+						
		1/5000 ...									+							
		1/6000 ...																

fourni des sérums agglutinants ou hémolytiques plus puissants que les lapins ayant reçu de l'anatoxine.

De ces expériences, nous pouvons conclure que, chez les animaux immunisés à l'anatoxine diphtérique, l'évolution des anticorps cholériques ou hémolytiques n'est nullement changée vis-à-vis des témoins non immunisés contre l'anatoxine. De même, chez les animaux immunisés contre le choléra ou les globules de mouton, rien n'est changé dans l'évolution des anticorps, indépendamment du moment où on a injecté l'anatoxine.

Nous avons vu, au contraire, que l'injection de toxine diphtérique a une action stimulante sur la production d'anticorps cholériques et hémolytiques.

D'où provient cette action différente ? Il est peu probable que la différence de l'action provienne d'une différence de pouvoir antigénique, les deux substances ayant eu sensiblement le même pouvoir floculant. Il faut donc penser à un pouvoir stimulant que seule la toxine possède, « non spécifique si l'on veut, par l'intoxication qu'elle exerce sur l'organisme et qui se traduit par de l'élévation thermique, du malaise de l'animal, dont l'anatoxine est dépourvue » (Schmidt).

Il est probable que l'action stimulante de la toxine diphtérique sur la production d'anticorps, qui se manifeste comme nous l'avons montré plus haut, soit due précisément à cette action stimulante non spécifique que la toxine diphtérique seule possède et dont l'anatoxine est dépourvue.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

1° Il existe des substances ne pouvant manifester une action stimulante sur la production d'anticorps hétérogènes qu'à certains moments de l'immunisation. Il ne suffit donc pas, lorsque l'on étudie l'action stimulante d'une substance, de chercher les anticorps à la dernière phase de l'immunisation, mais il faut, au contraire, rechercher son action durant toute l'immunisation.

2° L'action stimulante de la toxine diphtérique sur la production d'anticorps hétérogènes est fonction du *moment* de son introduction. Dans les méthodes employées, elle manifeste son pouvoir surtout entre le cinquième et le septième jour de l'immunisation pour les anticorps cholériques (agglutinines, précipitines, sensibilisines), et entre le troisième et le quatrième jour pour l'hémolysine. Cette action stimulante ne peut être mise en

évidence ni au début de l'immunisation, ni aux dernières phases de celle-ci.

3° L'action stimulante pour les anticorps cholériques, ainsi que pour l'hémolysine, consiste plutôt dans une *apparition précoce* de tous ces anticorps que dans une augmentation du titre de ceux-ci. Les titres des anticorps « stimulés » ne dépassent pas de beaucoup ceux que l'on obtient ordinairement à la fin d'une immunisation à globules rouges ou à vibrions cholériques. L'accélération dans l'apparition des anticorps « stimulés » est de quarante à soixante-dix heures.

4° Pour l'hémolysine, l'action stimulante dépend également de la *dose* employée : elle ne peut être mise en évidence ni si la quantité de toxine employée est trop grande, ni si celle-ci est insuffisante. Dans ce dernier cas, l'action est inconstante et tardive.

5° L'organisme des lapins, étant profondément intoxiqué par la toxine diphtérique, est capable de produire des anticorps (hémolysines et agglutinines cholériques) jusqu'aux dernières phases de l'intoxication diphtérique.

6° L'anatoxine, injectée à n'importe quel moment de l'immunisation anti-cholérique ou anti-globules rouges de mouton, n'a aucun pouvoir stimulant sur la production d'anticorps hétérogènes (hémolysines ou anticorps cholériques). Son action stimulante sur ces mêmes anticorps est également nulle à n'importe quelle phase où se trouverait l'immunisation cholérique ou hémolytique à laquelle l'anatoxine serait inoculée.

7° Une toxine et une anatoxine ayant le même pouvoir antigénique, se comportent différemment au point de vue de leur action stimulante pour les anticorps : la toxine a une action nettement stimulante que l'anatoxine ne possède point. L'action stimulante de la toxine n'est donc pas due au facteur « antigène spécifique », mais bien au facteur « antigène non spécifique » contenu dans la toxine diphtérique, et qui produit les phénomènes toxiques, propriété dont l'anatoxine est dépourvue.

BIBLIOGRAPHIE

1. Magheru (Georges et Alice) : « L'action de l'intoxication diphtérique sur certaines réactions d'immunité. » (*C. R. Soc. de Biol.*, t. CVI, 1931, p. 972.)
2. Id. : « Action de l'anatoxine diphtérique sur certaines réactions d'immunité. » (*Ibid.*, t. CVII, 1931, p. 843.)
3. Id. : « Action de l'intoxication diphtérique sur certaines réactions d'immunité. II. » *(Séance du 2 novembre 1932 à la Société roumaine de Biologie.)*
4. Schmidt : *Bull. de l'Inst. Pasteur*, 1928, p. 63.

DIAGNOSTIC DE L'INFECTION CHARBONNEUSE DES PEAUX BRUTES PAR LA SÉRO-RÉACTION ET LA MÉTHODE BACTÉRIOLOGIQUE

(Valeur diagnostique de ces deux méthodes au point de vue de la police sanitaire)

par

Dumitru C. RUSSU

I

L'on sait à quel point il est souvent difficile de faire le diagnostic d'infection charbonneuse en présence d'un cadavre putréfié. Cette difficulté se double du fait que les organes recueillis sur le cadavre par le médecin vétérinaire chargé de l'autopsie, arrivent souvent au laboratoire dans un état de décomposition telle qu'aucune des méthodes usuelles n'est plus capable de fournir des résultats certains. Il n'en est pas de même lorsque l'on s'adresse à la peau du cadavre suspect : là, les spores bactériennes peuvent être décelées, alors que l'on n'en retrouve plus dans les organes, — et cela, alors même que la méthode d'Ascoli plus ou moins modifiée donne des résultats négatifs.

La constatation de ce fait nous a permis d'augmenter, dans une mesure plus grande, la proportion des diagnostics positifs fournis par les peaux desséchées à l'état brut, telles qu'elles sont importées journellement dans les fabriques. Nous donnons ci-après les résultats de nos recherches.

ARCH. ROUM. DE PATHOL. EXPÉR., T. V, N° 3, SEPTEMBRE 1932.

II

DIAGNOSTIC DU CHARBON SUR LE CADAVRE PUTRÉFIÉ

Dans la pratique journalière, presque jamais les organes à examiner n'arrivent au laboratoire dans des conditions idéales. Presque toujours, — surtout par temps chaud, — les produits pathologiques arrivent en putréfaction soit du fait de négligence dans leur prélèvement et leur expédition; soit à cause du temps qui s'écoule avant qu'ils arrivent au laboratoire; soit, enfin, du fait d'une méthode d'expédition défectueuse. Si bien qu'il y a des causes d'erreur pour toutes les méthodes d'examen.

Dans le but d'obvier à cet inconvénient, on chercha un moyen pratique pour expédier les produits pathologiques, de manière à assurer aux germes infectieux des conditions favorables de sporulation. Sous l'impulsion de Forster, Iacobstahl et Pfersdorff, on étudia la méthode dite de « Strasbourg », qui consiste dans l'envoi au laboratoire de corps poreux (craie, bâtons de gypse, papier filtre) imbibés de sang charbonneux.

Si la température est favorable, la sporulation a lieu alors que l'évolution des anaérobies est entravée.

Le procédé fut étudié et modifié par Eberlé et Schuller, qui ont remplacé la craie par le papier filtre; mais celui-ci, avide d'eau, devient friable et par conséquent est inutilisable.

Muller et Engler ont préconisé l'emploi d'un fragment de pot à fleur, et Bozzelli conseille l'expédition de tiges de fougères ayant trempé dans le sang à examiner.

En plus des inconvénients présentés par chacune de ces variantes, les méthodes citées ne peuvent être toujours employées soit à cause de l'état de putréfaction avancée du cadavre autopsié; soit parce que, d'une manière habituelle, le médecin vétérinaire ne dispose pas de produits nécessaires à l'expédition.

Wulff (Allemagne), cherchant un procédé pratique pour le prélèvement et l'expédition des échantillons, conclut que la moelle des os réalise toutes les conditions requises.

Marchisotti a pu montrer que la bactéridie charbonneuse peut être cultivée à l'état pur en ensemençant la moelle des os des animaux charbonneux très longtemps après la mort. Plus récemment, Carneiro-Filho, en 1925, arrive aux mêmes conclusions. La

méthode fut étudiée par Truche dans la typhose aviaire, par Staub dans le choléra des poules ; Oberlander la trouva idéale pour l'envoi d'organes de porcs morts du rouget.

Bien que cette méthode se soit révélée comme efficace aussi bien au point de vue purement bactériologique qu'à celui de son utilité sanitaire, on a été poussé à de nouvelles recherches pour la raison que l'on ne possède pas toujours l'os nécessaire à l'envoi, et que souvent l'on n'a entre les mains, pour faire le diagnostic, que des produits tels que la peau ou la laine.

A. Ciuca et Stoicesco, en 1909, ont prouvé que les peaux et les poils d'animaux morts du charbon conservent pendant longtemps les spores de la bactéridie de Davaine. Ces auteurs ont pu cultiver le bacille même sur des cadavres en état de putréfaction avancée, en ensemençant sur plaques le produit de raclage de la peau chauffée dans la solution physiologique, pendant trente minutes à 65°

A l'aide de cette méthode, Gonzenbach a pu mettre en évidence la présence des spores de bactéridies charbonneuses dans la terre ayant servi sept ans auparavant de cimetière pour les animaux.

Widmer, en modifiant la température et la durée du chauffage du liquide à ensemenser, utilisa cette même méthode pour l'examen des fourrages suspects de contamination.

En Roumanie, la méthode A. Ciuca-Stoicesco a été employée avec succès dans tous les cas où les autres procédés avaient échoué. Ultérieurement, on l'employa couramment en même temps que l'examen microscopique et la culture d'organes.

S'inspirant des travaux de ces auteurs, Frey préconise le procédé suivant : sur le cadavre suspect, il coupe les trois quarts de l'oreille à partir de la pointe; il l'enveloppe dans du papier, puis dans du coton. En effet, l'oreille n'est que tardivement envahie par les microbes de putréfaction d'origine intestinale; de plus, le cartilage résiste longtemps au processus de destruction. De cette manière, on pare à tous les inconvénients mentionnés ci-dessus.

A. Ciuca et Tenea ont montré que, dans les fèces d'animaux charbonneux, les bacilles trouvent des conditions favorables de sporulation et que le nombre des spores augmente à mesure que l'on s'éloigne du moment de la mort. Mais comme, d'autre part, on trouve des spores même dans les fèces d'animaux sains, cette méthode n'entra pas dans la pratique courante.

Par la réaction d'Ascoli, en 1910, le séro-diagnostic fut appliqué au charbon. Un grand nombre des inconvénients fournis par

les organes arrivés au laboratoire dans un état avancé de putréfaction était de ce fait écarté.

En effet, comme la substance protéique spécifique de la bactéridie n'est détruite, ni par le processus de putréfaction, ni par les ferments protéolytiques ou amylolitiques, elle peut être facilement mise en évidence même sur des cadavres enterrés depuis longtemps. La rate est l'organe le plus indiqué pour la préparation de l'extrait.

Ultérieurement, Ascoli, en montrant que le précipitinogène qui se trouve dans les organes charbonneux est thermostabile, a beaucoup simplifié la technique de préparation de l'extrait et a publié sa nouvelle méthode de *thermo-précipitines*, ou plus exactement de *thermo-précipitinogènes*. Le procédé consiste à émulsionner environ 1 gramme de rate, bien triturée, dans du sérum physiologique, dans la proportion de 1 : 5, 1 : 10, que l'on chauffe pendant deux à trois minutes à l'ébullition ou au bain-marie, à la température de 56°; puis on refroidit sous le courant d'eau et on filtre. L'extrait obtenu de la sorte sert pour faire la réaction comme dans la méthode des précipitines.

La méthode a été reprise et étudiée par de nombreux chercheurs, tant pour les organes charbonneux frais que pour les organes entrés en putréfaction.

Granuci, qui s'est surtout occupé de ce sujet, a étudié tout particulièrement la distribution du précipitinogène dans les tissus. Il a montré que le précipitinogène se forme tout d'abord à la porte d'entrée du virus et ultérieurement dans les autres organes. La durée de la maladie, le nombre des germes virulents et la sensibilité de l'organisme pour ce virus, jouent un rôle important dans l'augmentation de la quantité du précipitinogène. La disparition de la bactéridie est directement sous la dépendance de l'augmentation de la quantité du précipitinogène.

Favero et Ronvaglio trouvent que d'autres organes peuvent donner également des réactions positives de thermo-précipitation, mais que le résultat dépend de l'état de décomposition du matériel, de la concentration de l'extrait et du titre du sérum précipitant employé.

Mais comme Ascoli lui-même avait reconnu, dès le début, que sa méthode n'était pas spécifique d'une manière absolue et que les critiques ultérieures l'ont classée plutôt comme une réaction de groupe, il en est résulté toute une série de recherches nouvelles dans le but de préciser les faits.

Or, Gasperi, dans deux séries d'expériences très ingénieuses,

montra que l'on pouvait en effet obtenir une réaction positive à l'aide de bacilles pseudo-charbonneux ou anthracoïdes; mais cela seulement dans des conditions tout à fait artificielles, tandis que, dans les conditions qui se rapprochent le plus des conditions naturelles, la multiplication des germes para-charbonneux dans les organes ne peut jamais être suffisante pour entraîner une réaction positive.

En tout cas, il est nécessaire de n'employer, pour obtenir la réaction, qu'un sérum spécifique d'un titre précipitant très élevé.

Ainsi donc, le diagnostic du charbon sur le cadavre putréfié était considérablement facilité par les deux méthodes signalées ci-dessus : celle des ensemencements proposée par A. Ciuca et Stoicesco, et celle de la séro-précipitation d'Ascoli. La supériorité de ces deux méthodes apparaît à la lecture des tableaux suivants qui proviennent des registres d'analyses de l'Institut Pasteur de la Faculté de Médecine de Bucarest (1919-1930) :

STATISTIQUE

DE LA TOTALITÉ DES CAS DE CHARBON SOUMIS A L'EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE, A L'INSTITUT PASTEUR DE BUCAREST (1919-1930)

Espèce animale	Échantillons examinés	N° des échant.	Recherches pratiquées							
			Frottis		Cultures		Réaction d'Ascoli		Cultures en plaques	
			Posit.	Nég.	Posit.	Nég.	Posit.	Nég.	Posit.	Nég.
Chevaux.	Organes.....	490	370	58	293	79	389	23	9	1
	Peaux.....	275	33	7	10	5	126	55	224	23
	Org. et peaux	238	159	57	125	62	170	42	95	43
Bœufs...	Organes.....	1540	1205	150	615	415	1190	71	34	12
	Peaux	1103	88	19	36	17	447	230	890	66
	Org. et peaux	453	315	72	173	131	367	67	202	89
Moutons et porcs.	Organes.....	215	160	28	117	28	146	8	4	1
	Peaux.....	298	12	4	7	1	91	49	272	14
	Org. et peaux	53	27	7	18	12	44	11	39	8

TABLEAU

CONTENANT LES CAS EXAMINÉS COMPARATIVEMENT PAR LES DEUX MÉTHODES : BACTÉRIOLOGIQUE ET RÉACTION D'ASCOLI

Échantillons examinés	No des échant.	Cultures		Réaction d'Ascoli		Cultures en plaques	
		Positive	Négative	Positive	Négative	Positive	Négative
Organes..	1826	1147	679	1633	193	—	—
Peaux ...	1260	—	—	866	394	1030	230

Comme on le voit par la lecture des petits tableaux ci-dessus, l'on a mis en regard les résultats obtenus comparativement par les deux méthodes appliquées uniquement à l'examen des peaux.

Or, il est aisé de se convaincre, d'après la comparaison des résultats obtenus, que si la méthode d'Ascoli donne des résultats supérieurs en ce qui concerne l'analyse des organes, le pourcentage de cas positifs obtenus par la méthode A. Ciuca-Stoicesco est très supérieur dès qu'il s'agit de l'examen des peaux.

C'est ainsi que, dans l'espace de douze ans, le nombre d'examens portant sur les organes a été de 1826, le nombre de cas portant sur la peau a été de 1260.

Or, en ce qui concerne l'analyse des organes, la méthode des ensemencements a fourni 1147 résultats positifs, soit un pourcentage de 63,36; la méthode d'Ascoli, employée comparativement, a donné 1633 résultats positifs, soit un pourcentage de 89,42. Donc, supériorité pour la méthode de précipitation.

Au contraire, l'examen des peaux a donné 866 résultats positifs par la méthode d'Ascoli, soit un pourcentage de 68,73 %, alors que la méthode des ensemencements de A. Ciuca et Stoicesco a fourni 1029 cas positifs, soit un pourcentage de 81,66 %.

Ces résultats s'expliquent tout naturellement, si l'on tient compte du fait que le nombre des bactéridies charbonneuses décroît très vite dans les organes en putréfaction, — et que, d'autre part, le précipitinogène spécifique n'est contenu dans la peau que dans des proportions assez faibles.

III

DIAGNOSTIC DU CHARBON BACTÉRIDIEN SUR LES PEAUX DESSÉCHÉES

Le péril de la dissémination du charbon par les produits bruts d'origine animale, ainsi que la possibilité de contamination de l'homme par la manipulation de ces produits, sont connus depuis longtemps.

En particulier, il est bien établi aujourd'hui qu'environ la moitié des cas de charbon d'origine industrielle sont dus à la manipulation, dans les tanneries, des peaux desséchées.

Le problème a repris de l'actualité à la suite de la guerre, surtout en ce qui concerne le danger que présentent les peaux et la laine importées. L'observation faite en Allemagne, que les cas de charbon avaient considérablement diminué au cours de la guerre, fut expliquée par le fait que, pendant cet intervalle, l'importation des peaux avait considérablement baissé. Des observations analogues furent faites en Angleterre (R. Jackson, Carnwath, Buchanan), en France (Abt), en Norvège (Bentzen), en Hollande (Jitta) et en Belgique (Gilbert). La station fondée à Liverpool, pour la stérilisation des laines, donne les meilleurs résultats et semble se terminer par une diminution sensible des cas de charbon industriel; il n'en fut pas de même des cas d'infection propagés par les peaux desséchées, auxquels les méthodes efficaces de stérilisation ne peuvent être appliquées.

Pour la solution de cette deuxième partie du problème, la station allemande nouvellement fondée à Postdam entreprit une étude comparative des méthodes de laboratoire permettant d'arriver à un diagnostic aussi exact que possible de la présence des spores charbonneuses dans les peaux. La méthode étudiée fut celle d'Ascoli; les conclusions de ces recherches furent que le procédé le meilleur permettant d'extraire de la peau des proportions aussi grandes que possible de précipitinogène, était celle de la macération à froid (Francke, Standfuss et Schmade). Sur la base des résultats obtenus, Mussemeier demande l'introduction de cette méthode dans tous les pays exportateurs et son application pour le triage des peaux destinées à être importées.

Or, certaines des conclusions fournies par les recherches faites à Potsdam ayant donné lieu à des critiques, de la part

d'expérimentateurs tels que Fischoeder, Claussen, Pohl, Cernaianu, nous avons pensé qu'il serait intéressant de soumettre le problème à une nouvelle revision et de rechercher :

1° Quelle est la méthode la meilleure pour extraire d'une peau desséchée la quantité maximum de précipitinogène ?
2° Quelle est la valeur relative de la méthode d'Ascoli comparée à la méthode des ensemencements ?

Nous donnons ci-après le résumé et le résultat de nos recherches :

A. — **Technique employée.**

a) Préparation du précipitinogène

Afin de nous faire une idée exacte de la valeur des différents procédés d'examen des peaux d'animaux charbonneux ou suspects de charbon, nous avons classé notre matériel en trois groupes. Un premier groupe comprenant des échantillons de peaux prélevées sur des brebis provenant d'un troupeau atteint de charbon; un second groupe formé de différents échantillons de peaux, telles qu'on les trouve dans le commerce; un troisième groupe comprenant des fragments de peaux qu'on avait reçues à l'Institut Pasteur (de la Faculté de Médecine vétérinaire de Bucarest), pour le diagnostic de la bactéridie charbonneuse.

Dans ce but, nous nous sommes servis de la réaction d'Ascoli à l'extrait de précipitinogène préparé d'après les trois procédés suivants : 1° procédé des thermo-précipitines; 2° procédé de l'extraction du précipitinogène à froid, et 3° procédé de l'extraction du précipitinogène à l'étuve à 37°.

1° *Procédé de thermo-précipitines* : on coupe 1 gr. 5 à 2 grammes de peau de l'échantillon à examiner, que l'on introduit dans un tube à essai; on y verse 6 à 8 centimètres cubes de solution physiologique. Les tubes sont ensuite placés au bain-marie et chauffés à 93°-95° pendant trois à quatre minutes. On les laisse refroidir lentement à la température du laboratoire, ou bien on les fait refroidir sous un courant d'eau. Le contenu des tubes est ensuite filtré sur de l'ouate d'amiante jusqu'à ce que le liquide soit parfaitement clair. Celui-ci peut dès lors être employé pour la réaction.

2° *Procédé de l'extraction du précipitinogène à froid suivant la technique de Standfuss* : les morceaux de peau finement coupés sont mis dans des tubes à essai; l'on y ajoute 5 à 10 centimètres cubes d'une solution physiologique phéniquée à 5 ‰. Les tubes sont maintenus de douze à vingt-quatre heures à la glacière ou à la température de la chambre; puis, après agitation, le liquide est filtré sur de l'ouate d'amiante jusqu'à ce que l'on obtienne un liquide parfaitement transparent. Ce dernier seul doit être employé pour les réactions.

3° Le troisième procédé (extraction du précipitinogène à la température de 37°) n'a été réservé qu'à un petit nombre d'échantillons de peaux examinés.

Voici notre manière de procéder : nous raclons le derme et le tissu conjonctif sous-dermique de la pièce à examiner; le produit de raclage est émulsionné dans un ballon de bouillon simple. Après macération de seize à vingt-quatre heures à l'étuve à 37°, le ballon est chauffé au bec Bunsen jusqu'à ébullition, ou au bain-marie à 65° pendant une heure; le contenu est filtré sur papier. Le filtrat obtenu servira pour les réactions de précipitation.

Théoriquement, les spores contenues dans les peaux prélevées se transforment en formes végétatives et, par là-même, elles augmentent la quantité de précipitinogène (dont la quantité initiale est très faible).

Au cours de nos recherches, il nous a été impossible d'obtenir, par ce dernier procédé, un liquide parfaitement transparent, même après plusieurs filtrations successives; aussi, cette méthode fut elle assez vite abandonnée.

b) Sérum employé

Pour les réactions d'Ascoli, nous nous sommes servis du sérum anti-charbonneux de cheval provenant de l'Institut de Sérologie du Docteur J. Cantacuzène, de Bucarest.

Le sérum anti-charbonneux de cet Institut, à côté de ses propriétés préventives et curatives, possède également un pouvoir précipitant très élevé.

Nous nous sommes servis uniquement de sérums ayant un pouvoir précipitant à 1 : 400.

Pour chaque groupe de prélèvement de peaux, à côté des tubes contenant les mélanges d'antigène et de sérum spécifique, on

plaçait, comme témoins, une série de tubes contenant les mélanges suivants :

a) Solution physiologique + sérum normal;
b) Solution physiologique + sérum précipitant;
c) Solution physiologique phéniquée à 5 ‰ + sérum normal;
d) Solution physiologique phéniquée à 5 ‰ + sérum précipitant;
e) Extrait de rate de souris charbonneuse + sérum normal;
f) Extrait de rate de souris charbonneuse + sérum précipitant.

Pour les extraits à chaud qui se font dans le ballon, on ajoute à la liste des précédents les témoins suivants :

g) Bouillon simple + sérum normal;
h) Bouillon simple + sérum précipitant.

c) Examen bactériologique

Tous les échantillons de peaux ont été examinés par nous, tant au point de vue sérologique (réaction d'Ascoli) qu'au point de vue bactériologique (procédé de Ciuca-Stoicesco).

TABLEAU II

Espèce animale	N° des échant. exam.	Recherches pratiquées							
		Réaction d'Ascoli						Examen bactériologique d'après la méthode « Ciuca »	
		Extrait à l'eau physiologique, chauffé au bain-marie		Extrait à l'eau physiologique, phéniqué « à froid »		Extrait au bouillon à 37° et chauffé ensuite au bain-marie			
		Positive	Nég.	Positive	Nég.	Positive	Nég.	Posit.	Nég.
Agneaux.	62	12 (4 +, 5 ++, 3 +++)	50	17 (3 +, 6 ++, 8 +++)	45	3 (1 +, 2 ++)	28	23	39
Moutons.	16	1 (++)	15	1 (+++)	15	—	—	5	11

TABLEAU III

Espèce animale	N° des échant. exam.	Recherches pratiquées							
		Réaction d'Ascoli						Examen bactériologique d'après la méthode « Ciuca »	
		Extrait à l'eau physiologique, chauffé au bain-marie		Extrait à l'eau physiologique, phéniqué « à froid »		Extrait au bouillon à 37° et chauffé ensuite au bain-marie			
		Positive	Nég.	Positive	Nég.	Positive	Négative	Posit.	Nég.
Agneaux.	19	1 (++)	18	2 (++)	17	—	—	2	17
Moutons.	27	2 (++)	25	5 (1 +, 1 ++, 3 +++)	22	—	—	6	21

TABLEAU IV

Espèce animale	N° des échant. exam.	Recherches pratiquées							
		Réaction d'Ascoli						Examen bactériologique d'après la méthode « Ciuca »	
		Extrait à l'eau physiologique, chauffé au bain-marie		Extrait à l'eau physiologique, phéniqué « à froid »		Extrait au bouillon à 37° et chauffé ensuite au bain-marie			
		Positive	Nég.	Positive	Nég.	Positive	Nég.	Posit.	Nég.
Agneaux.	4	—	4	—	4	—	—	1	3
Moutons.	3	1 (++)	2	1 (++)	2	—	—	1	2

Des morceaux de peaux de 5 à 8 centimètres carrés étaient placés dans des boîtes de Petri stériles et maintenus soit à la température de la chambre, soit au thermostat à 37° pour les dessécher parfaitement. Après avoir atteint le degré voulu de dessiccation, on prend chaque échantillon et, avec une lame en verre préalablement flambée, on racle tout le tissu conjonctif qui y adhère. Le produit du raclage, recueilli dans une boîte de Pétri stérile, est ensuite placé dans un ballon et émulsionné avec du bouillon simple chauffé au bain-marie pendant trente minutes à 65°.

10 gouttes de cette émulsion sont ensemencées dans un tube de gélose simple, préalablement fondue et maintenue à la température de 45° à 55°. Après une bonne homogénéisation, et sans produire de bulles d'air dans le milieu, on ensemence 10 gouttes de ce mélange dans un second tube préparé de la même manière. Le contenu de chaque tube est versé dans une boîte de Petri stérile; on laisse ces boîtes à la température de la chambre jusqu'à ce que la gélose se solidifie, et l'on porte les plaques au thermostat à 37°. Le premier examen des boîtes de Petri se fait après quatorze à seize heures d'incubation. Les cultures positives sont retirées de l'étuve, tandis que les autres plaques (négatives ou douteuse) y sont maintenues encore pendant six à dix heures à 37°, puis examinées à nouveau.

L'examen est fait d'abord à l'œil nu, puis à la loupe, puis contrôlé au microscope.

Dans le cas où les colonies présentent le type classique, on isole la bactéridie charbonneuse sur le milieu habituel.

Si les colonies présentent des formes atypiques, on fait des frottis ainsi que des inoculations à des souris blanches. D'ailleurs, presque tous les cas positifs ont été contrôlés par des inoculations aux souris, procédé pratique et rapide pour isoler la bactéridie charbonneuse et pour identifier la culture isolée.

B. — **Résultats de nos recherches.**

Dans une première série de recherches, nous avons examiné des peaux de brebis ou de jeunes agneaux provenant d'un troupeau vacciné depuis un an par la méthode pasteurienne, et dans lequel étaient apparus un certain nombre de cas de charbon. Le troupeau étant soumis à une nouvelle vaccination, au cours de cette dernière (entre l'emploi du premier et du deuxième vaccin), quelques animaux succombèrent à l'infection charbonneuse.

Notre examen porta sur les peaux de 131 individus, dont 46 moutons adultes et 85 agneaux. Parmi les animaux, il y avait des individus qui ont succombé de charbon ou d'autres maladies intercurrentes avant d'avoir été soumis à la vaccination pasteurienne (tableau II); un deuxième lot, représenté par des animaux qui sont morts au cours de la vaccination (tableau III), et un troisième lot, enfin formé par ceux ayant succombé à différents intervalles après la vaccination pasteurienne complète (tableau IV).

De la lecture des tableaux précédents résultent les trois constatations suivantes :

1° Dans la méthode d'Ascoli, les extraits préparés à froid ont donné un pourcentage de réactions positives plus grand, et des réactions d'intensité supérieure à celles que l'on obtient avec les extraits préparés à l'ébullition.

2° La méthode bactériologique donne un pourcentage de résultats positifs supérieur à celle d'Ascoli.

3° Les peaux des animaux récemment vaccinés et ayant succombé à des infections autres que le charbon ne donnent de résultats positifs avec aucune des deux méthodes, — contrairement aux affirmations de Bierbaum, Krause et Reinstoff, qui considèrent la vaccination comme capable de faire apparaître le précipitinogène chez les animaux vaccinés.

Dans une deuxième série de recherches, nous nous sommes servis d'échantillons de peaux de diverses espèces animales provenant des dépôts de Bucarest : 79 échantillons de différentes espèces d'animaux furent prélevés de 3 dépôts mis sous la surveillance du service vétérinaire communal. Les résultats de ces recherches sont consignés dans le tableau V :

TABLEAU V

Espèce animale	N° des échant. exam.	Recherches pratiquées							
		Réaction d'Ascoli						Examen bactériologique d'après la méthode « Ciuca »	
		Extrait à l'eau physiologique, chauffé au bain-marie		Extrait à l'eau physiologique, phéniqué « à froid »		Extrait au bouillon à 37° et chauffé ensuite au bain-marie			
		Positive	Négative	Positive	Négative	Positive	Négative	Posit.	Nég.
Moutons.	39	1 (++)	38	1 (++)	38	1 (++)	38	1	38
Chevaux.	4	—	4	—	4	—	—	—	4
Moutons.	16	—	16	—	16	—	—	—	16
Bœufs...	20	—	20	—	20	—	20	—	20

On peut se rendre aisément compte, d'après ce tableau, qu'il existe une concordance parfaite dans les résultats en ce qui concerne l'examen des peaux normales par le procédé bactériolo-

gique et par le séro-diagnostic. Le fait que, sur 39 peaux de moutons examinées en première ligne, une seule ait été trouvée charbonneuse, nous autorise à croire que l'infection de contact de peau à peau ne se produit pas facilement. Bien que transportés ensemble et groupés par 10 dans de grandes boîtes de Pétri, les bacilles charbonneux n'ont poussé que dans un seul cas, celui qui précisément avait fourni une séro-réaction positive.

Dans une dernière série d'expériences, nous avons repris l'examen d'un certain nombre de peaux de moutons, de chevaux et de bœufs qui avaient été déjà soumis, à l'Institut Pasteur de la Faculté de Médecine vétérinaire de Bucarest, à un contrôle pratiqué par la méthode d'Ascoli (préparation de l'antigène à chaud).

Pour nos expériences, nous avons employé la méthode d'Ascoli (en préparant l'antigène à froid) comparativement avec la méthode bactériologique.

TABLEAU VI

Espèce animale	N° des échant. exam.	Statistique personnelle				Statistique de l'Institut Pasteur de Bucarest			
		Réaction d'Ascoli Extrait à l'eau physiologique, phéniqué « à froid »		Examen bactériologique d'après la méthode « Ciuca »		Réaction d'Ascoli Extrait « à chaud »		Examen bactériolog. d'après la méthode « Ciuca »	
		Positive	Nég.	Positive	Négative	Positive	Négative	Posit.	Nég.
Moutons.	26	9 (3 +, 2 ++, 4 +++)	17	11	15	6	20	10	16
Bœufs.	61	26 (6 +, 5 ++, 15 ++·+)	35	33	28	19	42	33	28
Chevaux.	28	8 (3 ++, 5 +++)	20	16	12	6	22	17	11

Les résultats indiqués dans le précédent tableau sont d'une évidence impressionnante : de même que dans les expériences citées plus haut, il en résulte la supériorité incontestable de l'antigène préparé à froid, et la supériorité — incontestable également — de la méthode bactériologique de A. Ciuca-Stoicesco sur la méthode d'Ascoli.

Il faut toutefois faire remarquer que, dans les examens portant

sur les peaux de mouton, il n'y a qu'un seul fait discordant entre les résultats de l'examen bactériologique fait par nous et ceux de l'Institut Pasteur. L'explication en est fournie par le fait que, sous un même numéro, furent inscrits plusieurs échantillons provenant d'un même propriétaire et que tous n'ont pas été examinés. Un cas discordant inverse existe dans les examens des peaux de chevaux.

C. — Discussion des résultats obtenus.

La réaction de séro-précipitation d'Ascoli, utilisée dans nos recherches pour le diagnostic du charbon bactéridien sur les peaux brutes de différentes origines, a donné des résultats qui diffèrent suivant la méthode d'extraction du précipitinogène.

En résumant les résultats consignés dans les tableaux ci-dessus, nous constatons que :

1° Par la méthode des thermo-précipitines, sur un total de 325 peaux provenant d'espèces d'animaux différentes, l'on a obtenu, par la méthode d'Ascoli *(antigène préparé à chaud)*, 49 résultats positifs, soit 15 % ; par la méthode bactériologique, le nombre des cas positifs est de 99, soit 30,5 %.

2° Ces mêmes peaux traitées par la méthode d'Ascoli (extrait à froid) ont donné un nombre de 70 cas positifs, soit un pourcentage de 21,5 %, ce qui démontre la supériorité de l'antigène préparé à froid sur l'antigène préparé à chaud.

3° Notons ici que l'extrait préparé avec des peaux conservées dans le chlorure de sodium donne un extrait plus concentré ou de même concentration que le sérum, ce qui ne permet pas de maintenir la surface de séparation des deux liquides. Nous croyons donc justifiée la recommandation des auteurs allemands de laver les peaux à grande eau, de manière à dissoudre l'excès de NaCl.

En comparant les résultats positifs fournis par les différentes méthodes, il résulte qu'un nombre de 50 cas positifs — démontrés comme infectants par la méthode bactériologique — ont échappé à la méthode des thermo-précipitines, ce qui représente 50,5 % de l'ensemble des cas infectants. Par la préparation à froid de l'extrait, — suivant la méthode de Potsdam, — 70 cas sur 99, confirmés par la méthode bactériologique, furent trouvés positifs, autrement dit 29 cas, 29,29 %, n'ont pas pu être diagnostiqués par cette méthode.

Du reste, Reichel et Eidherr, utilisant comparativement les deux méthodes, ont trouvé également la méthode bactériologique supérieure à celle d'Ascoli dans 14,5 cas % (expériences sur 177 peaux).

Nous pensons que ces constatations sont d'une grande importance pour la prophylaxie du charbon; en effet, elles prouvent la possibilité de dissémination du charbon et de la contamination des hommes et des animaux par des peaux brutes desséchées et considérées comme indemnes, lorsque le diagnostic a été fait uniquement par la méthode d'Ascoli.

On pourrait objecter à la méthode bactériologique que le grand nombre de résultats positifs qu'elle enregistre est dû en partie au fait que les cultures n'ont fait que mettre en évidence les spores acquises par les peaux normales au contact direct des peaux charbonneuses.

Si l'on analyse attentivement notre matériel, ainsi que celui de l'Institut Pasteur de Bucarest, nous voyons que, sur 39 peaux de moutons prises dans le dépôt de M. I. S..., et consignées dans le tableau IV, bien que transportées dans le même ballot au laboratoire, puis maintenues par groupe de 10 échantillons dans des boîtes de Pétri, pendant plusieurs semaines, une seule donna des cultures positives.

En résumé, il résulte de l'ensemble de nos recherches que, lorsqu'il s'agit de diagnostic à porter sur des peaux d'animaux suspects, la méthode bactériologique l'emporte de beaucoup sur celle d'Ascoli et diminue notablement le nombre des erreurs possibles.

BIBLIOGRAPHIE

Abt (G.) : « La désinfection des peaux charbonneuses. » (*Bull. Soc. d'Enc. pour l'Industrie nationale*, 1913, p. 348.)

Ascoli (A.) et Valenti (E.) : « Diagnosi biologica del carbonchio ematico. » (*La Clinica Veterinaria*, n° 21, 1910.)

Ascoli (A.) : « La precipitina nella diagnosi del carbonchio ematico. » (*La Clinica Veterinaria*, n° 1, 1911.)

Id. : « Diagnosi del carbonchio ematico col metodo della *Termoprecipitina*. » (*Ibid.*, n° 4, 1911.)

Id. : « Il diagnosticare del carbonchio ematico. » (*Ibid.*, n° 4, 1911.)

Id. : « La reazione della termoprecipitina nel mal rosso. » (*Ibid.*, n° 24, 1911.)

Id.: « Les précipitines dans le diagnostic du charbon bactéridien. » (*C. R. Soc. Biol.*, t. I, 1911, p. 194.)

Bentsen : « Le charbon en Norvège. » (*Bull. de l'Office intern. d'Hyg. publ.*, vol. 13, 1921, p. 1237.)

Besredka (A.) : *Immunisation locale*. Masson et C^ie^, 1925.

BESSUBETZ (S.-K.) : « Gewinnung des präzipitierenden Milzbrand serums und seine praktische Anwendung für Häuteuntersuchungen. » (*Zeitchrift f. Infek. Krank. der Haustiere*, Bd. 31, 1927.)

BESSON (AL.) (Dr) : *Technique microbiologique et sérothérapique*. Baillière et fils, 1930.

BIRBAUM (K. KRAUSE W.) : « Ueber das Vorhandensein von Milzbrandpräcipitinogen in der Haut gegen Milzbrand schutzgeimpfter Rinder. » (*Arch. f. Wissen. und park. Tierkeilkunde*, 1925.)

BORDET (J.) : *Traité de l'immunité dans les maladies infectieuses*, 1920.

BUCHANAN : « La lutte contre le charbon dans les poils et les peaux d'animaux en Grande-Bretagne. » (Communication à l'Office intern. d'Hyg. publ., session d'avril-mai 1925. *Bull. de l'Office intern. d'Hyg. publ.*, Paris, septembre 1925, pp. 973-975.

BUICULESCU (H.) : « Diagnosticul cărbunelui bacteridien prin metoda *Termo-precipitinelor Ascoli*. » (*Texă*, 1912.)

CARNEIRO (J.-J.) : « Essais sur diagnostic bactériologique du charbon bactéridien. » (*Thèse* Alfort, 1925.)

CARNWATH (T.) : « L'incidence et la prophylaxie du charbon dans le Royaume-Uni. » (Note présentée au Comité de l'Office intern. d'Hyg. publ., dans la session d'octobre 1921, par le Dr G.-S. Buchanan, délégué de la Grande-Bretagne. *Bull. de l'Office intern. d'Hyg. publ.*, vol. 13, 1921, p. 1223.)

CANTACUZÈNE (J.) (Dr) : « Recherches sur l'origine de précipitines. » (*Ann. Inst. Pasteur*, 1908, 54.)

CERNAIANU (C.) : « Réaction de précipitation d'Ascoli, en présence d'un extrait préparé à froid, pour le diagnostic du charbon bactéridien. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1926.)

CIUCA (A.) et IONESCU (MIHAESTI) : « Epidemia de cărbune (bacteridien) din județul Constanța. » (*Revista științelor medicale*, nos 10-11, 1907.)

CIUCA (A.) et STOICESCU (G.) : « Le diagnostic bactériologique du charbon par culture de la peau. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1909.)

ID. : « Diagnostic bactériologique du charbon par cultures de la peau. » (*Archiva Veterinară*, n° 2, 1909.)

CIUCA (A.) et TENEA (G.) : « Recherches sur le diagnostic *post mortem* du charbon bactéridien par des matières fécales. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1909, p. 301.)

COMBIESCU (D.), SORU (E.) et STAMATESCO (S.) : « Recherches sur les substances solubles spécifiques (rezidual antigens) de la bactéridie charbonneuse. » (*A. R. de Path. et Micr.*, 1929.)

CLAUSSEN (Dr) : « Vergleichende Untersuchungen über das Verhalten von Essigsäure und Karbolsäureauszügen beim Milzbrandnachweis an Häuten durch das Präzipitations verfahren nach Ascoli. » (*Z, f. Inf. u. Hyg. der Haustiere*, 1927.)

ENGLER (A.) : « Experimentale Untersuchungen hinsichtlich der für die Bewirkung der Sporulation des Milzbrandbazillus geeignetsten substrate vermittelst des *Strassburger Verfahrens* zum Nachweis von Millbrand. » (*Inaug. Disser. Bern.*, 1911.)

FAVERO (F.) : « Contributo alta diagnosi del carbonchio ematico colla *reazione Ascoli* della Termo-precipitina. » (*La Clinica Veterinaria*, n° 11, 1911.)

FISCHOEDER (F.) : « Vorbeuge bei der Verbreitung des Milzbrandes durch tierische Roherzeugnisse. » (*Elfter Internationaler Tierärztlicher Kongres*, 1930.)

FLEMMING (A.) : « Die serodiagnose des Milzbrandes vermittelst der Präzipitations method nach Ascoli. » (*Berliner Tierärztliche Wochensch.*, 1913.)

FRANCKE, STANDFUSS, SCHNAUDER et MÜSSEMEIER : « Untersuchungen über der Milzbrandnachweiss an Häuten mittels der Präzipitation. » (*Arch. f. wiss. und prak. Tierheilkunde*, 1924, p. 530.)

Frey : « Problems in anthrax Contrl. » (*J. of Am. Vet. Med. Ass.*, 1919.)
Gasperi : « La réaction d'Ascoli dans le diagnostic du charbon bactéridien. » (*Revue génér. de Méd. vétérinaire*, n° 214, 1911.)
Gherlach (F. Mickalka) : « Sur l'extension du charbon bactéridien en Autriche. » (*Bull. des Epizooties*, septembre 1930.)
Glibert : « Comment se présente, pour l'industrie belge, l'avant-projet de Convention internationale sur la désinfection obligatoire des laines et des déchets animaux employés dans l'industrie. » (*Bull. du Serv. méd. et du Travail*, n°s 3-4, 1922, pp. 87-91, Bruxelles, publ. 1924.)
Glugan (D.) : « Cercetări asupra diagnosticului antraxului prin examenul comparativ al peilor cu reacția Ascoli si culturi în plăci. » (*Teză*, 1929.)
Gonzenbach [W.) : « Ueber auffalend reichlichen Befund von Milzbrandsporen in der Erde eines Abdekplatzes. » (*Zeitschrift für Hygiene*, 1915.)
Granuci (L.) : « La reazione precipitante Ascoli — termoprecipitina — nel carbonchio ematico. » (*La Clinica Veterinaria*, n° 16, 1911.)
Grossu (Gh.) : « Incercări de preparare a unui ser anticărbunos precipitant prin injecțiune intradermică. » (*Teză*, 1926.)
Ionescu (P.) : « Incercări de diagnostic prin metoda termoprecipitinelor Ascoli în pasteureloza păsărilor și porcilor. » (*Teză*, 1913.)
Jitta (I.-M.) : « Note sur l'infection charbonneuse dans les Pays-Bas. » (Communiquée au Comité de l'Office internat. d'Hyg. publ. dans sa session d'octobre 1921. *Office intern. d'Hyg. publ.*, vol. 13, 1921, p. 1220.)
Jackson (R.) : « Note sur l'introduction en Grande-Bretagne du charbon bactéridien par des produits d'origine animale. » (*Bull. des Epizooties*, mai-juin, 1929.)
Kraus (R.) et Schiffman (J.) : « Sur l'origine des anticorps. Précipitines et agglutinines. » (*An. Inst. Past.*, 1906.)
Kraus (R.) (D[r] Prof.) : « Bacterienpräcipitation und Bacterienpräcipitine. » (*Handbuch der pathog. Mikroorg.*, L. 36, Bd. II, 1929.)
Kolle (W.) et Hetsch (H.) : *La bactériologie expérimentale appliquée à l'étude des maladies infectieuses*, 1918.
Macovescu (Tr.) : « Diagnosticul rujetului prin metoda *Termo-precipitinelor Ascoli.* » (Teză, 1913.)
Meunetrier : *Maladies parasitaires communes à l'homme et aux animaux. Charbon. Nouveau Traité de Médecine et de Thérapeutique.* Gilbert Thoinot, 1914.
Motaș (S.-C.) : *Curs de boli contagioase. Litografiat*, 1928.
Mussemeier (D[r]) : « La propagation du charbon bactéridien par des produits animaux bruts ou fabriqués. » (*Bull. des Epizooties*, mai 1929.)
Id. : « Zur Epidemiologie und Bekämfung des Milzbrandes der Tiere. » (*Z. f. Infek. und Hyg. der Haustiere*, 1928.)
Nocard et Leclainche : *Les maladies microbiennes des animaux.* G. Masson, 1896.
Orzea (D.-D.) : « Reacțiunea Ascoli în diagnosticul antraxului prin ser precipitant de câine. » (*Teză*, 1925.)
Osiander (Th.) : « Beiträge zur Diagnose des Milzbrandes mittelst der Präzipitations methode nach Ascoli. » (*Berliner Tieräztliche Wochensch.*, 1913.)
Pohl (G.) (D[r]) : « Kann bei der Häutenuntersuchungen vermittels des Kaltauzugesverfahrens zur Schichtprobe nach Ascoli durch Milzbrandähnliche Bakterien eine positive Reaction vorgetäuscht werden ? » (*Centralbl. für Bak. Orig.*, Bd. 103, 1927.)
Reichel (H.) et Eidherr (A.) : « Ist die Ascoli-Reaktion zur Aussonderung milz-brandinfektiöser Häuten geeignet. » (*Archiv. für Hygiene*, 1931, t. CV, pp. 262-271.)
Riegler (P.) (Prof.) : « *Cours de Microbiologie. Litografiat*, 1913.

REINSTORF (A.) : « Ist in der Haut von Rindern, die gegen Milzbrand schutzgeimpft sind, Milzbrand antigen durch die Ascoli reaktion nachweisbar ? » (*Arch. f. wiss. und prak. Tierheilkunde*, Bd. 52, 1925.)

RONCAGLIO (GIOVANNI) : « Nuovo contributo sperimentale alla consocenza della *Reazione Ascoli* nella diagnosi del carbonchio ematico. » (*La Clinica Veterinaria*, n^os^ 20-21, 1911.)

STANDFUSS (R.) et POHL (G.) : « Desinfektionsversuche an ausländischen Milzbrandhäuten. » (*Zeitschrift f. Infek. und Hyg. der Haustiere*, Bd. 32, 1927.)

STOICESCU (GH.) : « Cercetări asupra diagnosticului bacteriologic al antraxului prin culturi din piele. » (*Teză*, 1909.)

SOBERNBEIM (G.) : « Milzbrand. » (*Hand. der path. Mikroor.*, 1929.)

SCHOCKAERT (I.) : « L'antigène charbonneux dans la réaction d'Ascoli. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1928, p. 1242.)

TENEA (GH.) : « Contribuțiuni la diagnosticul cărbunelui bacteridien prin examenul bacteriologic al materiilor fecale. » (*Teză*, 1909.)

UHLENHUTH (P.) (D^r^ Prof.) et SEIFFERT (W.) (D^r^ Prof.) : « Die biologische Eiweissdifferenzierung mittels der Präcipitation mit besonderer Berücksichtigung der Technik. » (*Hand. der path. Mikroorg.*, t. 23, Bd. III, 1928.)

WIDMER (S.) : « Ueber das Vorkommen und den Nachweiss vom bacillus anthracis in Kraftfutter mitteln. » (*Inaugural. Dissert. Bern.*, 1926.)

MODIFICATIONS BIOLOGIQUES DES TISSUS ÉPITHÉLIAUX CULTIVÉS « IN VITRO » DEUXIÈME LOI DE CARREL. LOI DE CHAMPY. CATAPLASIE ÉPITHÉLIALE DE CULTURE

par

E.-C. CRACIUN

Il est incontestable que la prolifération des cultures *in vitro* est analogue, quant à son mécanisme de production, aux phénomènes de régénération.

A la perte de substance, à la désintégration tissulaire, au déséquilibre stroma-parenchyme, succèdent, avec une intensité et sous des modalités variables, la régénération de nouveaux complexes cellulaires, afin de réaliser un nouvel équilibre. La croissance cellulaire *in vitro* est amorcée par la résection du fragment initial, et se poursuit un certain temps. La durée de cette croissance n'est nullement réglée par la quantité des substances nutritives encore non employées; les recherches de Ren Kimura démontrent que les cultures deviennent inactives longtemps avant d'avoir épuisé leur milieu. Le même fait réapparaît dans les observations de de Haan. Cet auteur a réalisé, grâce à un dispositif approprié en circuit fermé, le changement ininterrompu du milieu de culture, en l'espèce, une solution saline « péritonéalisée ». Dans ces conditions, les cultures reçoivent indéfiniment des substances alimentaires dont elles ont besoin pour leur prolifération, tout en pouvant dégager librement leurs déchets. La disproportion de masse est telle entre leur milieu nourricier et les colonies cultivées, que ces dernières se trouvent pratiquement en présence d'un milieu toujours renouvelé, tout comme dans le corps animal. Seulement, les tissus n'y poussent pas indéfiniment, leur prolifération s'arrêtant après un laps de temps variable, de

ARCH. ROUM. DE PATHOL. EXPÉR., T. V, N° 3, SEPTEMBRE 1932.

dix à quatorze jours. Il faut pratiquer un nouveau repiquage, donc traumatisme mutilant, pour voir reprendre l'activité des cultures, dont les cellules sont, de ce fait, en état de régénération.

Les cultures de tissus peuvent donc servir à apprécier le pouvoir de régénération des divers tissus de l'économie. C'est une question très importante pour la chirurgie et la pathologie expérimentales que de savoir jusqu'à quel point certain parenchyme peut récupérer ses pertes de substances par régénération, c'est-à-dire par l'échafaudage de nouvelles unités spécifiques jouissant pleinement des fonctions normales caractérisant ce même parenchyme. Rappelons-nous que la plupart des tissus épithéliaux ne sont capables d'une pareille restitution *ad integrum* qu'à une condition : il faut que la limitante élastique ou collagène ne soit pas entamée. Une fois cette barrière abolie, il s'ensuit une telle suractivité conjonctive que la néoformation parenchymateuse en est étouffée. Le résultat est une cicatrice mutilante au point de vue histo-fonctionnel.

Ce fait est également vrai pour les tissus glandulaire, nerveux et musculaire. Seuls les épithéliums de revêtement y font défaut, jusqu'à un certain point tout au moins. A part cette exception, il s'agit donc d'une concurrence entre la croissance épithéliale et la croissance conjonctive, avec prévalence finale de cette dernière dans les conditions sus-indiquées, lesquelles correspondent à la majorité des cas expérimentaux ou cliniques. Cette prévalence est tellement la règle, du moins en apparence, que le pouvoir de prolifération histologique des cellules nobles peut être révoqué en doute la plupart du temps.

A ce point de vue, la contribution apportée par la méthode de Harrison-Burrows-Carrel est des plus significatives. De nombreux auteurs, à la suite de Carrel, Fischer, Ebeling, Rhoda Erdmann, Nordmann et Doljansky, ont longuement cultivé des éléments d'origine épithéliale ; différentes souches pures ont même été isolées par ces différents auteurs. Cela démontre que les cellules épithéliales sont capables de vie autonome indéfinie *in vitro*, vu que bon nombre de ces souches ont dépassé deux ans de culture. Les fibroblastes de la souche Carrel, isolée en janvier 1913, à partir d'un fragment de myocarde embryonnaire du poulet, méritent aujourd'hui l'épithète d'immortels, à l'instar des infusions de Woodruff. Les recherches sus-indiquées paraissent indiquer qu'il n'y a pas de différence qualitative entre les tissus de souche mésodermale, par rapport aux éléments dérivés de l'ecto-endoderme. C'est tout simplement une différence quanti-

tative d'autant moins importante que la technique des cultures épithéliales est autrement difficile que celle des cultures conjonctives. En dehors des conditions nutritives, les premières demandent une certaine ambiance physique, réalisée par ce que nous avons désigné sous le nom de milieu mixte de Carrel. La particularité de ce milieu réside dans l'association d'une phase liquide recouvrant une phase solide. La première est composée d'un mélange de plasma hépariné ou de suc embryonnaire et de solution saline Thyrode; la deuxième n'est que le milieu ordinaire de Carrel: plasma sanguin + suc embryonnaire + Thyrode. Cette ambiance à la fois « solide » et liquide offre les meilleures conditions possibles, puisque les colonies épithéliales se développent à la surface de la phase « solide », tout en étant protégées par la phase liquide contre la dessiccation et l'accumulation des déchets. La partie liquide peut être facilement aspirée, ce qui permet un renouvellement des cultures sans interrompre leur prolifération. Vu ces qualités, le milieu mixte de Carrel est devenu le milieu type pour cultures épithéliales ; c'est seulement grâce à cette trouvaille d'ordre technique, qu'il a été possible de réaliser de vraies cultures épithéliales, de longue durée, en souche pure.

De plus, d'après Doljansky, il faut réduire le taux du suc embryonnaire dont une concentration plus élevée favorise notablement la prolifération fibroblastique. Il est d'ailleurs préférable de rejeter dès le début les cultures où le conjonctif s'annonce le plus précoce et le plus actif, parce que l'épithélium prolifère pauvrement par la suite.

Les cultures « in vitro » ont permis de résoudre de cette manière la *question de la fertilité des cellules nobles,* du moins pour la plupart d'entre elles. A ce point de vue, *cette méthode a été beaucoup plus utile que celle des greffes des régénérations provoquées « in vivo »*. La raison en est très simple : dans le corps de l'animal, le traumatisme opératoire stimule en même temps les éléments hématogènes et histiogènes d'origine mésenchymale; et il est bien difficile, sinon impossible, de départager nettement ce qui revient à chacun d'eux lors de la réparation tissulaire. Toute l'histoire de l'inflammation le démontre. Par contre, avec les précautions que nous avons rappelées, *les cultures « in vitro » permettent de réaliser des expériences autrement conclusives, puisque démontrant, en dehors de toute objection possible, que les parenchymes sont capables de régénération active, grâce à une prolifération pouvant se prolonger pendant plusieurs années* sans interruption.

*
**

La fertilité des cellules épithéliales mise hors de doute, une autre question d'égale importance se présente : *quelle est la valeur fonctionnelle spécifique de ces éléments néoformés ?*

A ce dernier point de vue, de nombreux auteurs, parmi lesquels Jolly, Champy et Ricker, ont critiqué la méthode des cultures *in vitro* quant à ses résultats et ses principes. D'après Jolly (1911), il ne s'agit que d'une autolyse plus ou moins prolongée, ce qui n'était malheureusement que trop réel, surtout dans les premières années qui suivirent les découvertes de Harrisson et de Carrel, — et même depuis, bon nombre d'auteurs n'ayant jamais réalisé de vraies cultures.

D'après les deux derniers auteurs précités, les éléments survivants sont très différents de ceux initialement ensemencés. N'importe quel degré de perfection technique sera atteint, pour les cultures *in vitro,* il est évident que les tissus vivants s'y trouvent dans des conditions métaphysiologiques (Ricker), tellement différentes de l'ambiance normale, qu'il nous est interdit d'en faire aucune application pratique, afin d'éclaircir tel ou tel phénomène normal.

A cette importante objection d'ordre théorique, Champy ajoute des observations morphologiques très minutieuses; ses études embrassent les modifications subies par le parenchyme germinatif ou somatique (rein, thyroïde) et par différents tissus de la lignée mésenchymale. Le point de vue défendu par cet auteur, dans une série importante de publications, est le suivant : la culture en dehors de l'organisme modifie profondément la forme et les fonctions cellulaires, lesquelles sont très altérées. Les tissus font en sens inverse leur évolution morphogénique et subissent, de ce fait, une dédifférenciation. Pour y arriver, les tissus hautement spécialisés, comme le rein ou la thyroïde, commencent par se diviser abondamment *in vitro*; mais cet excès de vie végétative ramène en quelque sorte toutes les autres fonctions à la plus élémentaire des propriétés du cytoplasme vivant : augmentation de masse et division. C'est une prolifération désordonnée, juste l'inverse de la prolifération harmonique caractérisant l'embryogénèse. Il en résulte la perte de toute hiérarchie cellulaire; c'est le retour à l'état embryonnaire, où les cellules épithéliales et conjonctives n'ont pas encore acquis leurs caractères distinctifs. De par leur excès d'indépendance anarchique,

les cellules cultivées *in vitro* sont rayées des cadres de la hiérarchie tissulaire; plus était avancée leur différenciation biologique, plus étendue en sera la dégradation.

Il ne s'agit pas seulement d'une fonte des métastructures cytoplasmiques, aux approches de la division cellulaire. Ce phénomène réversible est souvent observé en morphologie animale, et la loi de Prenant établit l'antagonisme qui existe entre les fonctions spécifiques et la faculté de reproduction des cellules. Et, d'autre part, pour les éléments capables de phases alternatives de repos et de morbidité, tels les amibocytes d'Arénicola, il a été démontré par Fauré-Frémiet que la cellule élabore ou fait disparaître des filaments rigides intra-cellulaires. D'après Champy, il ne s'agit pas seulement de phénomènes analogues, essentiellement physiologiques, mais d'un changement qualitatif autrement lourd de conséquences. Il s'agit d'un état précancéreux où les cellules arrivent finalement à la faveur de leur prolifération anarchique.

La conception de Champy souligne un fait : la perte des caractères spécifiques des cellules évoluées — et une tendance : vers l'état précancéreux. En ce qui concerne ce deuxième point, cela ne veut pas signifier en l'espèce cancérisation effective, inévitable. La souche de fibroblastes de Carrel est cultivée depuis bientôt deux décades sans avoir, de ce fait, acquis des caractères néoplasiques, et ce n'est pas non plus le cas pour les souches épithéliales d'Ebeling, d'Albert Fischer, après six mois ou même plus de deux ans de passages successifs. Les faits ont prouvé le non-fondé de cette interprétation. Nous allons voir que les épithéliums cultivés *in vivo* sont plutôt et à la fois para-cancéreux et para-normaux. Même en ce qui concerne la « dédifférenciation », les observations de Champy ont perdu de leur portée, parce que de nombreux auteurs ont réussi depuis à cultiver des cellules épithéliales sans leur voir prendre un état tellement simplifié. Rappelons seulement que Fischer a isolé une souche d'épithéliums iridiens en 1921 ; Ebeling, une souche thyroïdienne en 1922; Kirby (1926), l'épithélium du cristallin; Rhoda Erdmann (1924), la cellule tégumentaire du cobaye; Doljansky et Nordmann, indépendamment l'un de l'autre, l'épithélium hépatique (1929). Dans toutes ces instances, les cellules épithéliales ont gardé leur carrelage typique; elles ont produit soit de la mélanine, soit des ferments, soit du glycogène, tout en gardant un cytoplasme plus ou moins grenu selon le cas, et en poussant au rythme plus ralenti des cultures épithéliales. Les nappes de

cellules thyroïdiennes peuvent reformer des tubes (ou des vésicules closes), si on les cultive en présence du tissu collagène (Albert Fischer). Les cellules cutanées peuvent se cornifier *in vitro* (Drew, Maximow). Cela veut simplement dire que la technique des cultures épithéliales a fait des progrès considérables et que, même pour des cultures prolongées pendant plus de deux ans, dans certaines conditions favorables, ces éléments ne vont pas si loin en arrière qu'il a été affirmé.

Si les observations de Champy sur les cultures thyroïdiennes ont été infirmées par celles de Carrel et Ebeling, il en est autrement en ce qui concerne le rein. Des résultats obtenus depuis, même s'ils ne confirment pas pleinement les vues de Champy, sont univoques à constater qu'il n'y a pas de prolifération histotypique pour ce parenchyme *in vitro*. On n'a jamais observé la néoformation de glomérules rénaux; en ce qui concerne les tubes rénaux, aux résultats positifs de Burrows et Carrel, de Drew, de Rienhoff, s'opposent ceux de Champy et de Policard. Il est vrai que Nordmann et Nishibe dénient tout caractère mésenchymateux proprement dit aux cellules issues des glomérules. En tout cas, les fragments de rein des jeunes mammifères poussent, selon le type épithélial, soit en tubes (Carrel et Burrows, Drew, Rienhoff), soit en nappe continue (Craciun). C'est d'ailleurs un fait bien connu de tous ceux qui ont pratiqué cette méthode, que plus un tissu est jeune, plus sa régénération est intense et plus ses cultures sont abondantes et histotypiques. Ce n'est nullement surprenant que les cultures de Champy, faites à partir du rein adulte de chien ou de lapin, n'aient montré que peu ou même pas de prolifération en comparaison avec les mêmes tissus prélevés sur des animaux nouveau-nés ou même sur l'embryon, suivant d'autres auteurs.

Même dans ces dernières conditions d'expérience, les moins défavorables que l'on puisse réaliser présentement, il est indéniable que l'on ne peut obtenir *in vitro* une formation aussi complexe que le néphrone, avec son glomérule et ses segments différemment calibrés, pourvus ou non de plateau cilié, ayant un cytoplasme plus ou moins clair, avec ou sans bâtonnets. Cette différenciation progressive ne peut pas être réalisée *in vitro* dans les conditions expérimentales dont nous disposons aujourd'hui; MAIS CETTE OBJECTION PERD BEAUCOUP DE SA VALEUR SI ON SE RAPPELLE QUE NOUS NE CONNAISSONS NON PLUS AUCUN FAIT DÉMONTRANT LA RÉGÉNÉRATION POSSIBLE DU NÉPHRONE *in vivo*. Même avec des connexions vasculaires et nerveuses normales, et sous

l'empire des corrélations fonctionnelles normales, le parenchyme rénal n'est pas capable de régénérer ses unités, morphologiquement parmi les plus complexes de l'organisme. Tout au plus y a-t-il formation de bourgeons épithéliaux à double rangée cellulaire, mais sans lumière centrale, sans aucune des métastructures rénales (Masson).

La méthode de Harrison-Burrows-Carrel n'a jamais été présumée faire plus que l'organisme « normal » en matière de régénération histotypique; c'est une méthode *très* expérimentale, il est vrai, ne donnant en cette occurrence, que des renseignements incomplets sur les propriétés du parenchyme rénal en tant que partie intégrante de l'économie animale. Par contre, cette *méthode est inégalable justement par la mise en évidence de certaines autres propriétés fondamentales ne pouvant se manifester qu'en dehors de l'emprise intertissulaire,* fût-elle d'ordre morphologique ou fonctionnel.

Les recherches très étendues et très méthodiques de Champy ont eu néanmoins le mérite incontestable d'avoir insisté sur les atypies morphologiques des tissus cultivés *in vitro*. Ce fait est indéniable : la discussion doit porter seulement sur l'étendue de ces atypies, et sur leur interprétation possible aujourd'hui, étant donné tous les progrès réalisés depuis en matière de cultures épithéliales.

*
**

Dans des recherches antérieures, nous avons étudié le mode de croissance des colonies épithéliales rénales, afin de mieux comprendre l'édification des pseudo-membranes typiques pour ces colonies. Nous avons noté le fait que les cellules des tubes rénaux laissent émigrer, après six heures, des cellules ovoïdes ou vaguement polygonales, sous forme de tubes ou de plages, et que le caractère distinctif de ces colonies épithéliales en voie de formation est que les cellules restent en contact permanent, ininterrompu, les unes avec les autres. *C'est un bourgeonnement continu,* avec tendance divergente, puisque les bourgeons s'étalent et vont confluer les uns avec les autres, formant parfois des arcades, dont l'aire libre est remplie secondairement par des éléments de même dignité cellulaire. *Nous voyons donc les cellules épithéliales rénales acquérir des fonctions amiboïdes,* mais d'un type tout à fait particulier, sur lequel nous allons insister une autre fois. C'est un caractère nouvellement acquis *in vitro*.

Nous avons étudié précédemment les cultures de la cornée

embryonnaire ou adulte de lapin ou de cobaye, servant de support au virus vaccinal. Même amboïsme, même *cytotropisme* ne permettant que des migrations en groupe continu. Les cellules épithéliales adhèrent les unes aux autres, par différence des cellules conjonctives, lesquelles émigrent et restent à l'état isolé.

Nous avons repris dernièrement l'étude des cultures thyroïdiennes et hépatiques, aussi bien de la zone d'émigration que du fragment initial. Le but était de suivre, autant que possible, les différentes étapes morphologiques qui relient les unités tissulaires normales avec leur équivalents modifiés par la culture *in vitro*.

La thyroïde du jeune cobaye se laisse facilement cultiver *in vitro*. Il est inutile d'insister sur les premiers signes d'activité des cellules épithéliales, éléments réfringents et cuboïdaux surplombant le bord du fragment initial et le quittant bientôt pour former soit des bourgeons et des tubes, soit des plages vaguement circulaires ou polycycliques. Cette étape nous montre déjà une colonie à ses débuts, laquelle évolue soit vers la colonie digitiforme, soit vers la colonie en pseudo-membrane pavimenteuse à carrelage très apparent. Ce dernier type correspond à une plus grande fertilité.

Des cultures ont été fixées d'après les procédés suivants : formol salin à 10 % ; Bouin, Orth, à des intervalles rapprochés : 4, 10, 15, 24, 48, 72 et 96 heures. Le fragment initial était délogé et traité séparément ; tandis que celui-ci était débité en coupes sériées, le reste de la culture était fixé et coloré *in situ*.

Les vésicules thyroïdiennes subissent des transformations très marquées, auxquelles participent également la colloïde, les cellules épithéliales, le stroma.

A) *La colloïde* devient par endroits plus opaque et plus chromophile, avec une teinte différente. Des fissures et craquelures y apparaissent, ou bien des géodes demi-circulaires se creusent à sa périphérie. A un stade plus avancé, la colloïde disparaît en partie ou totalement, et cette transformation se poursuit avec une vitesse variable dans les différentes régions du fragment initial.

Il nous a paru que les régions correspondant au maximum d'activité cellulaire sont également celles où cette résorption de la colloïde se produisait le plus rapidement. Des éléments cellulaires peuvent être mélangés aux blocs de colloïde intra-folliculaire ; il s'agit soit d'éléments en voie de nécrose, desquamés, soit d'éléments ayant conservé leur aspect et leur chromophilie normale: ces derniers sont toujours en continuation avec l'épithélium

folliculaire et ne pénètrent pas très loin vers le centre de l'aire folliculaire.

B) *Le revêtement épithélial* subit des transformations autrement importantes. Au fur et à mesure de la mobilisation de la colloïde, la forme des follicules change notablement. Il s'agit d'un aplatissement plus ou moins marqué, avec réduction de la lumière centrale, laquelle peut totalement disparaître. Il en

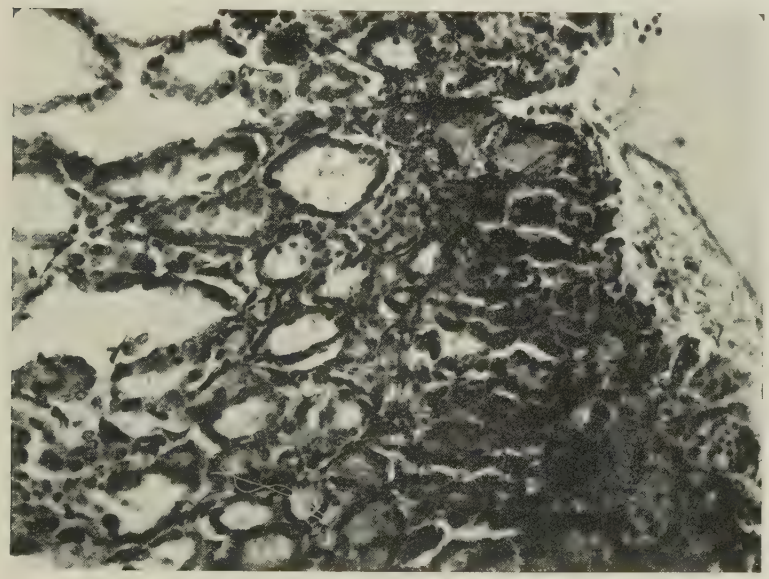


FIG. 1. — *Thyroïde de cobaye « in vitro », après 24 heures.*
Les follicules typiques, situés vers le centre du fragment initial, présentent des lésions variables comme intensité, mais irréversibles. Plus en dehors se trouve la zone fertile où les follicules sont aplatis, tubulés avec cellules très colorables.

résulte un aspect tubulé très net (fig. 1). Ou bien il s'agit d'une prolifération cellulaire très active remplissant toute la section optique du follicule, dont les dimensions restent entre les limites moyennes. Hyperchromie de plus en plus forte, allant de la périphérie du fragment vers son centre. Nous n'avons pu trouver que de rares mitoses, apparaissant un peu plus tard ; c'est donc par amitose que se fait la prolifération épithéliale dans ce cas.

Les nouveaux éléments apparus en marge du fragment initial sont sensiblement plus clairs et plus étalés, formant nappe con-

tinue après vingt-quatre heures. Ce sont des cellules à contour polygonal, tassées les unes contre les autres, uniformément pâles, avec un noyau parfois excentrique, vésiculeux, à membrane nucléaire peu apparente, et fin dessin chromatique en blocs éparpillés. Sur cette nappe continue (fig. 2) se profilent les formes étirées des leucocytes mononucléés en émigration tardive, ou bien

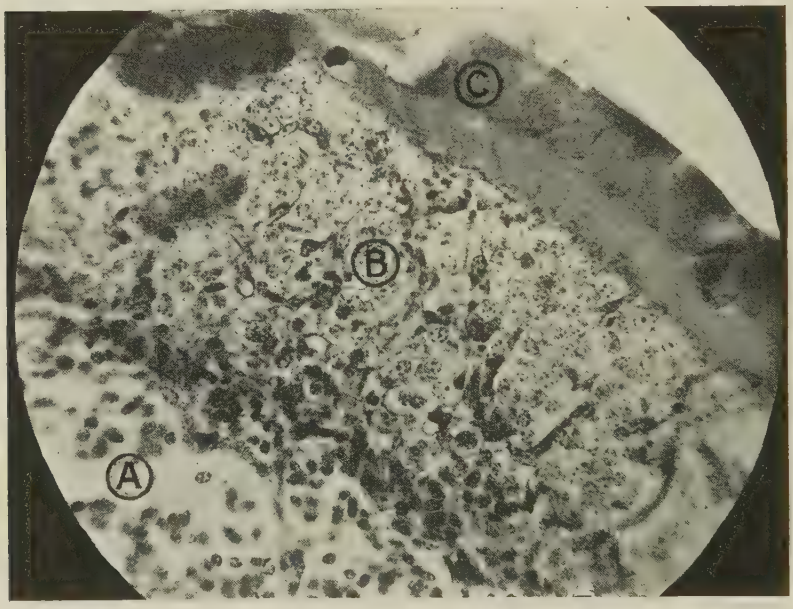


Fig. 2. — *Thyroïde de cobaye « in vitro », après 48 heures.*
A, follicules en remaniement. *B*, cellules épithéliales aplaties, plus claires, formant des plages à l'intérieur du stroma ; traînées de leucocytes et de cellules épithéliales en migration. *C*, caillot de plasma.

des noyaux pycnotiques, assez fréquents. Ces derniers peuvent parfois constituer une rangée presque continue.

c) Dans beaucoup de cultures, le *stroma* ne manifeste pas d'activité notable. Pas de silhouettes en brin d'herbe, ou en fer de lance, quittant le fragment en direction radiaire centrifuge. Ce cas, signifiant l'exode des fibroblastes, se présente le plus souvent lorsque le fascia cellulaire entourant la glande n'a pas été disséqué aussi complètement que possible et enlevé sous la loupe binoculaire. Si on ne prend pas cette précaution, il peut arriver de trouver la culture entourée de fibroblastes sur une

partie ou sur la totalité de son pourtour, ce qui empêche toute prolifération épithéliale.

Les méthodes histologiques mettant en évidence le collagène montrent une disparition rapide des fibres conjonctives à la périphérie du fragment initial; on en trouve ci et là des tronçons ou des blocs irréguliers.

Pas d'activité vasculaire; tout au moins nous n'avons pu tracer, dans nos cultures, aucune participation vasculaire.

De cette courte description, il résulte que *les cellules thyroïdiennes collaborent plus ou moins activement à la résorption de la colloïde et qu'en même temps elles montrent une prolifération très active.* Les éléments de nouvelle formation remplissent les follicules vides ou bien produisent des tubes plus ou moins dépourvus de lumière centrale. Nous n'avons pu tracer comment se comportent, à cet égard, les follicules intacts et ceux partiellement entamés par les incisions du scalpel. Ajoutons que des coups de scalpel étaient surajoutés en sens radiaire, sur le pourtour du fragment pour ouvrir le plus de vésicules possibles. Notons également que, dans les fragments dépassant environ 1 millimètre de côté, des signes de nécrobiose apparaissent rapidement au milieu du fragment avec pycnose et hyperchromicité très marquée de toutes les cellules sans distinction, ce qui masque toute structure à ce niveau.

Dans les cultures fertiles, des digitations ou des plages de cellules apparaissent *dépourvues de toute polarité glandulaire.* En effet, on n'y retrouve aucune tendance à un groupement selon un axe quelconque, les cellules sont complètement libérées de leurs obligations de groupe, c'est une simple végétation de cellules à caractères épithéliaux très manifestes, mais ne trahissant par aucun détail morphologique leur origine thyroïdienne.

Cultures de foie. — Généralement, le foie ne donne pas de cultures particulièrement abondantes (Carrel, Lynch). Dans les dernières années, entre les mains de Doljansky et de Nordmann, ce tissu s'est montré suffisamment fertile pour produire des cultures pures sur les caractères desquelles nous n'insisterons pas ici.

Des fragments de foie prélevés sur de jeunes cobayes ou des souris embryonnaires, furent cultivés et traités de même que les cultures de thyroïde. La croissance y était toujours plus réduite que dans ces dernières, mais se maintenait active pendant le même laps de temps (14 passages, de un à quatre jours d'intervalle). Une attention particulière fut accordée aux premières

quarante-huit heures, avec des résultats sensiblement analogues. La mobilisation des cellules hépatiques se fait plus lentement; nous n'en avons vu les preuves certaines qu'après un premier passage et après environ trente heures de culture. Pour le foie de la souris, de nombreux éléments de la série hématopoïétique obscurcissent jusqu'à un certain point le champ. Mais, dans les deux cas, dès lors, des plages plus claires se forment à la péri-

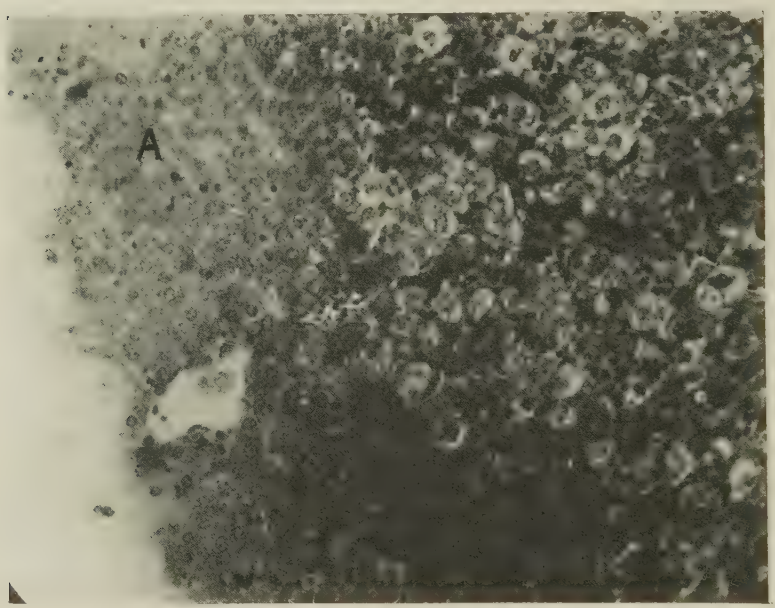


Fig. 3. — *Foie de cobaye « in vitro », après 24 heures.*
La zone fertile (*A*) contient des cellules claires formant nappe et poussant des pointes vers le milieu de culture; des cellules plus foncées en émigration active vers la périphérie, ce qui donne un aspect bigarré aux parties profondes du fragment.

phérie du fragment initial, où les cellules sont plus proches et leur disposition trabéculaire disparue. Il en résulte une agglomération cellulaire où l'on a en quelque sorte l'impression de regarder une coupe tangentielle dans la profondeur d'un épithélium cylindrique stratifié, tant les cellules sont strictement accolées les unes contre les autres. Il y a des différences entre les cellules des plages claires périphériques et les cellules centrales du fragment initial. Dix heures après avoir subi leur repiquage, les premiers de ces éléments sont plus clairs, plus homo-

gènes, avec un état grenu plus fin et plus également répandu de par tout le champ cellulaire. Petits noyaux vésiculeux, parfois excentriques, surtout vers la limite extérieure de la bordure (fig. 3). Par contre, les cellules situées plus à l'intérieur présentent des noyaux de taille variable, de teinte plus ou moins foncée, sans toutefois présenter des lésions. Après cinquante-six heures, tandis que la périphérie de la pseudo-membrane avance

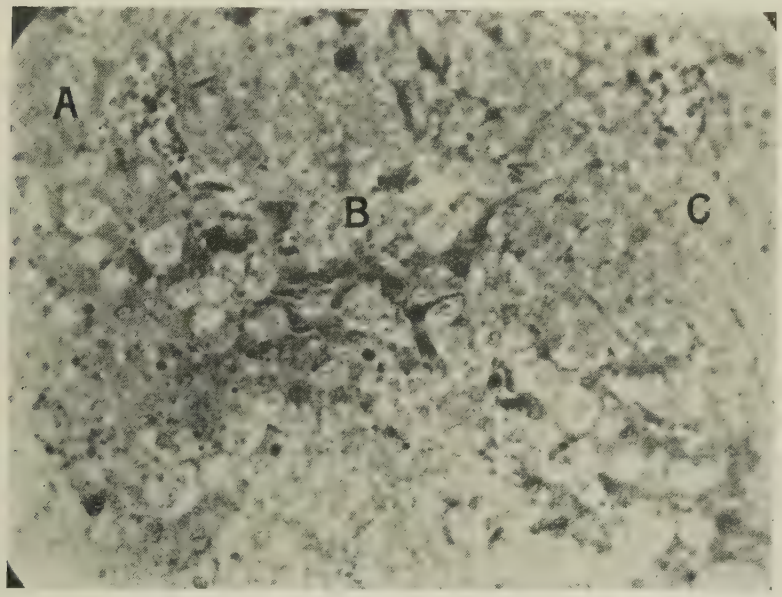


FIG. 4. — *Foie de cobaye « in vitro », après 72 heures.*
A, zone fertile ; les épithéliums bien conservés forment des plages réticulées, parsemées soit de cellules très claires en voie de lyse hydropique, soit de fragments de noyaux. *B*, limite extrême, vers l'intérieur du fragment, des plages réticulées fertiles ; les cellules épithéliales y sont plus foncées, de forme irrégulière et ramassée ; ce sont des cellules en migration active. *C*, nécrose progressive par cytolyse.

lentement, le centre des fragments subit des modifications très marquées. La plupart des cellules se colorent très faiblement; leur cytoplasme est devenu vacuolaire, ou dessine un espace clair entre le noyau et la limite cellulaire, encore nette du fait que le cytoplasme paraît se ramasser d'un seul côté de la cellule (fig. 4). Parmi ces éléments subissant une lyse progressive, et devenus plus clairs maintenant que les cellules de bordure ont déjà émigré, il y a des cellules à forme peu commune : fusi-

formes, étoilées, incurvées, pyriformes ou bien globuleuses. Toutes se caractérisent par une colorabilité assez forte, mais présentent un dessin chromatinien d'aspect normal, et pas de lésions cellulaires notables. Ces cellules gardent une silhouette active, correspondant à un amiboïsme intense. Si on suit attentivement, du centre vers la périphérie, l'agencement de ces éléments amiboïdes, on peut se convaincre qu'il y a, entre ces deux groupes, des transitions très nettes. Les cellules amiboïdes deviennent plus trapues, perdent leur aspect globuleux ou fusiforme, s'étalent et deviennent graduellement moins intensément colorées. Leur répartition, très irrégulière à première vue, présente pourtant ce caractère général de constituer autant de groupes distincts qu'il y a de pointes envoyées par la zone fertile périphérique vers la zone centrale, en nécrobiose manifeste. Ces pointes constituent donc autant de centres de ralliement pour les dernières cellules épithéliales capables de quitter le centre du fragment initial grâce à leur amiboïsme actif.

Naturellement, nous avons contrôlé cet aspect sur de nombreuses cultures n'ayant montré aucune prolifération conjonctive. Les cultures de souris s'y prêtaient moins bien.

Pour nous en tenir à la prolifération, à l'amiboïsme et à la dépolarisation des cellules hépatiques ou thyroïdiennes cultivées *in vitro*, ces caractères constituent, évidemment, autant d'acquisitions de la cellule épithéliale subissant un environnement anormal.

Ce ne sont plus des cellules thyroïdiennes ou hépatiques identifiables par leurs caractères propres histologiques. Ce sont des cellules épithéliales quelconques, du moins à cet état de liberté, lequel constitue l'état de culture. Les différences, que les cellules hépatiques ou thyroïdiennes prises isolément dans la colonie peuvent encore présenter dans les premiers deux ou trois jours, s'estompent par la suite. C'est vrai que les cellules hépatiques restent plus grenues et leur cytoplasme paraît plus ramassé, plus dense et plus fluide.

*
**

Il est incontestable que les cellules cultivées *in vitro* ont perdu beaucoup des caractères ordinaires du tissu d'origine. A ce point de vue, les observations de Champy n'ont rien perdu de leur *valeur principielle*. Même si les cultures épithéliales ont enregistré depuis des progrès considérables et démontrent que les

vues de cet auteur ne sauraient avoir aujourd'hui la même portée théorique et pratique, il en reste néanmoins le fait central, à savoir que *les épithéliums cultivés « in vitro » perdent, par ce fait, bon nombre de leurs caractères morphologiques et fonctionnels.* Polarité cellulaire, structures métaplastiques, cytoarchitectonie, équilibre stroma-parenchyme — en d'autres mots : les caractères histotypiques disparaissent. *C'est un fait d'observation tellement général qu'il a valeur de loi.* Il en est de même des cellules conjonctives ou musculaires et des leucocytes. *La* CULTURE « IN VITRO » AMÈNE UNE SIMPLIFICATION CYTOLOGIQUE ET TISSULAIRE, tel pourrait être l'énoncé de LA LOI DE CHAMPY, si on veut lui conserver la valeur *qualitative* des observations de cet auteur. Nous venons de voir qu'au point de vue quantitatif, brut, ses résultats ont été largement dépassés depuis, sinon pour le rein, du moins pour la thyroïde (Carrel, Fischer, Ebeling). En tout cas, il n'y a certainement pas un retour de toutes les cellules épithéliales à l'état d'éléments non différenciés, impossible à distinguer des cellules mésenchymateuses. Les faits expérimentaux ayant démontré l'inexistence d'une « dédifférenciation » totale, c'est évident qu'il s'agit néanmoins d'un *dysmorphisme*, très facile à constater du reste.

Ce sont les caractères négatifs de ce dysmorphisme que Champy a mis en évidence. Il a insisté sur le relâchement des complexes cellulaires, sur la disparition des métastructures spécifiques, sur l'unification du type cellulaire persistant *in vitro*. Cet auteur n'a souligné qu'un seul caractère positif, nouvellement acquis par la culture : une activité mitotique anormalement intense.

Là se bornent les observations de Champy. Pourtant, Carrel et ses collaborateurs, les deux Lewis, avaient, dès la même date, insisté sur les fonctions actives des cellules épithéliales *in vitro*, que nous pouvons estimer très importantes aujourd'hui. En plus des divisions cellulaires, il y a l'amiboïsme, l'accumulation de colorants vitaux (fonction néphrocytaire, de Renaut), le pouvoir de réédifier des complexes stroma-parenchyme du type glande tubulaire (Albert Fischer, Drew). Ce fait, observé d'ailleurs par Champy lui-même, fut attribué par cet auteur à l'action antagoniste des tissus dissemblables.

Ce sont donc autant de caractères positifs montrant, tout aussi bien que les caractères négatifs soulignés par Champy, que les cellules sont capables de parfaire *in vitro* tout un cycle dysmorphique, dont le résultat est l'adaptation à de nouvelles condi-

tions d'existence. Il nous paraît nécessaire de résumer tout ceci sous forme de loi : LES CELLULES CULTIVÉES « IN VITRO » ACQUIÈRENT, DE CE FAIT, DES CARACTÈRES NOUVEAUX PAR RAPPORT A LEUR TISSU D'ORIGINE; CES CARACTÈRES CONSTITUENT UNE ADAPTATION ACTIVE, TYPIQUE, POUR LES CELLULES VIVANT INDÉFINIMENT « IN VITRO ».

Il nous paraît naturel de rattacher, au nom d'Alexis Carrel, cette deuxième loi des cultures *in vitro* (1).

C'est à Carrel que nous devons tout spécialement les premières études des caractères progressifs nouvellement acquis *in vitro,* tant pour les cellules conjonctives que pour les leucocytes, de même que nous lui devons la réalisation de vraies cultures épithéliales, grâce à son milieu mixte. Rappelons de plus la belle étude de Carrel sur l'adaptation progressive des fibroblastes adultes cultivés *in vitro,* passant d'un état normal, quiescent, à un état actif caractérisé par un métabolisme, une vitesse de prolifération, une néphrocytose, un amiboïsme, une morphologie tout à fait particulières. Des modifications analogues transforment le monocyte du sang circulant en macrophage.

En résumant ce qui vient d'être dit, il est clair que la loi de Champy pose certaines limites qualitatives à la méthode de Harrison-Burrows-Carrel. L'étendue de cette loi dépend des progrès techniques à réaliser; mais, d'ores et déjà, il est loisible d'admettre que les cellules cultivées *in vitro* resteront toujours, et quoi que l'on fasse, différentes des cellules normales des tissus. La loi de Champy constate cet état de choses, lequel évolue en sens inverse avec nos possibilités pratiques, au prorata de la « cultivabilité » de tel ou tel tissu. Remarquons, à ce dernier point de vue, combien difficile est la tâche de l'expérimentateur qui doit résoudre, dans ce domaine, tant d'inconnues. Il s'agit du métabolisme particulier et du potentiel de croissance de chaque tissu et de chaque espèce cellulaire, questions sur lesquelles l'état actuel de nos connaissances est tout à fait insatisfaisant.

(1) Il y a une première loi de Carrel, énoncée par cet auteur comme il suit : *l'activité d'un tissu « in vitro » à un certain moment est probablement une fonction de son activité au moment précédent, et de la concentration des substances excitoformatrices ou inhibitrices présentes dans la lymphe interstitielle ou le plasma sanguin.* Un bel exemple en est fourni par la moindre prolifération des ostéoblastes, si on réduit le taux du suc embryonnaire, accompagné par une production de tissu osseux comme conséquence d'une nouvelle orientation des fonctions cellulaires, d'après Fischer et Parker.

Si on veut concevoir dans leur ensemble les faits groupés sous la deuxième loi de Carrel et celle de Champy, on serait tenté de dire, d'après leur signe algébrique, que ces deux lois groupent les manifestations d'un dysmorphisme, comprenant à la fois des caractères disparus (loi de Champy) et des caractères nouvellement acquis (deuxième loi de Carrel). Pour cet état de dysmorphisme, nous avions proposé le nom de *cataplasie de culture*. Le terme de dédifférenciation, choisi par Champy et couramment employé depuis, nous paraît ne plus correspondre à l'état actuel des cultures des tissus. Ce terme est devenu impropre pour deux raisons également importantes :

1° Les cellules épithéliales ne perdent pas obligatoirement leur différenciation blastodermique et cytologique;

2° Les cellules épithéliales acquièrent *in vitro* des caractères nouveaux, par adaptation active (deuxième loi de Carrel).

Ce terme de cataplasie (1) de culture est choisi par analogie avec ce qui se passe dans la régénération *in vivo* et même dans le cancer. Il y a une cataplasie de régénération, lorsque les éléments nouvellement formés ne répètent pas exactement le canon histologique. Les névromes d'amputation, les kelloïdes cutanés, les cellules orthoplasmiques de Dominici ou de Turck, les exostoses éburnées, les nouveaux canaux biliaires produits au cours de l'atrophie hépatique, les nouveaux tubes rénaux signalés par Masson, rentrent dans cette catégorie.

Beneke considérait que le cancer représente une cataplasie des cellules d'origine. Il s'agit d'un dysmorphisme autrement grave de conséquences, mais en tant que phénomène morphologique, entièrement comparable aux deux autres proliférations tissulaires anormales, que nous connaissons aujourd'hui : la régénération expérimentale ou spontanée et la culture des tissus.

La cataplasie de culture est évidente pour les épithéliums; son installation peut être suivie pas à pas, comme nous venons de le voir; mais son étendue est moins importante et son sens n'est pas univoque et irréversible, comme on le concevait autrefois, avec les premières études de Champy.

(1) Ce terme de cataplasie s'applique donc à des cellules nouvellement formées et présentant des caractères tout à fait différents de ceux appartenant aux cellules normales. C'est une déviation, par rapport au plan normal de l'économie ; *des cellules cataplasiques n'existent jamais normalement.* Par contre, dans la métaplasie, le *siège* seulement est anormal : cornification de l'épithélium pharyngé, ossification du ligament intervertébral, etc.

La deuxième loi de Carrel, comme nous avons proposé de l'énoncer plus haut, résume tous les faits contraires à la conception et à la loi de Champy, et s'applique aux caractères progressifs de la cataplasie de culture.

(Institut de Sérums et Vaccins
« Docteur J. Cantacuzène », Bucarest.)

BIBLIOGRAPHIE

Carrel (Alexis) : *Journ. Amer. Med. Ass.*, 55, 1910, p. 1379.
Carrel et Burrows : *Journ. Amer. Med. Ass.*, 55, 1910, p. 1379. — *C. R. Soc. Biol.*, 69, 1910, pp. 365, 298.
Carrel et Ebeling : *Journ. of exper. Med.*, 44, 1926, p. 261.
Champy (L.) : *C. R.. Soc. Biol.*, 72, 73, 1912 ; 75, 1913 ; 76, 1914 ; 83, 1920 ; 96, 1927, p. 1108. — *Arch. de Zool. exper.*, 54, 1914, p. 307 ; 55, 1915, p. 61.
Craciun (E.-C.) : *C. R. Assoc. Anat.*, Londres, 1927. — *C. R. Soc. Biol.*, 107, 1931, p. 852. La culture des tissus en biologie expérimentale. Masson et C^ie^, 1931.
Doljansky (L.) : *C. R. Soc. Biol.*, 101, 1929, p. 754.
Drew (A.-H.) : *British Journ. Path.*, 4, 1923, p. 46.
Ebeling ; *C. R. Soc. Biol.*, 90, 1924, pp. 562, 1383, 1449.
Erdmann (Rhoda) : *Prakt. der Gewebepflege*, 1922. — *Deutsch. med. Woch.*, 1922, p. 1. — *Anat. Anzeiger*, 58, 1924, p. 1108.
Fischer (Albert) : *Journ. of exper. Med.*, 35, 36, 1922, p. 205. — *C. R. Soc. Biol.*, 96, 1927, p. 1118. — *Gewebezüchtung*, 1930.
Fischer et Parker : *Arch. f. exper. Zellforsch.*, 8, 1929, p. 325.
Haan (J. de) : *Bull. d'Histol. appl.*, 4, 1927, p. 293.
Jolly (J.-C.) : *C. R. Soc. Biol.* 69, 1910, pp. 470, 608 ; 70, 1911, p. 4.
Kimura (Ren) : *Arch. für exp. Zellforsch.*, 70, 1928, p. 4.
Lewis et Lewis : *Scientia*, 39, 1914.
Lynch (R.-S.) : *Anatomical Record*, 18, 1920, p. 249.
Maximow (Al.) : *Virchow's Arch.*, 256, 1925, p. 813.
Nordmann (M.) : *Arch. exp. Zellforsch.*, 8, 1929, p. 371.

Le Gérant : J. Caroujat. NIORT. — IMP. TH. MARTIN